



Галкина Ирина Васильевна

**НАПРАВЛЕННЫЙ СИНТЕЗ
ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ
В РЯДУ ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫХ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ
ФОСФОНИЕВЫХ СОЛЕЙ И ИХ МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСОВ**

**02.00.03 – органическая химия
14.04.02 - фармацевтическая химия, фармакогнозия**

**АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора химических наук**

Работа выполнена в Химическом институте им. А.М.Бутлерова
Казанского (Приволжского) федерального университета

Научный консультант:

доктор химических наук, профессор
Черкасов Рафаэль Асхатович

Официальные оппоненты:

доктор фармацевтических наук, профессор
Чекрышкина Людмила Александровна

доктор химических наук, профессор
Пудовик Михаил Аркадьевич

доктор химических наук, профессор
Кутырев Геннадий Андреевич

Ведущая организация:

Южный федеральный университет,
г. Ростов-на-Дону

Защита диссертации состоится «17» декабря 2010 года в 10.00 часов на заседании диссертационного совета Д 212.080.07 при Казанском государственном технологическом университете по адресу: 420015 г. Казань, ул. К. Маркса, 68, зал заседаний Ученого совета, А-330.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Казанского государственного технологического университета.

Автореферат разослан «15» ноября 2010 года.

НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА КГУ



0000681104

Ученый секретарь
диссертационного совета

Нугуманова Г.Н.

Общая характеристика работы

Актуальность исследования. Разработка новых отечественных лекарственных препаратов в настоящее время поставлена государством в ранг основных приоритетных направлений социально-экономического развития и национальной безопасности страны. Фундаментальной задачей биомолекулярной, фармацевтической и медицинской химии является разработка новых методов синтеза, позволяющих целенаправленно конструировать новые эффективные лекарственные средства, обладающие высокой физиологической активностью и минимальной токсичностью. Для успешного осуществления данной задачи необходимо решать вопросы, находящиеся на стыке многих областей науки – органической, элементоорганической, физической, фармацевтической химии, физики и медицины. Однако, отсутствие на сегодняшний день единой удовлетворительной теории, связывающей химическое строение с биологической активностью, существенно замедляют появление новых отечественных лекарственных препаратов.

Это, в свою очередь, ставит проблему выбора наиболее оптимальной стратегии поиска и направленного синтеза физиологически активных веществ (ФАВ) нового поколения. Доминировавшая до недавнего прошлого в мировой практике стратегия тотального скрининга всех вновь синтезированных соединений в силу ее чрезвычайной затратности и малой эффективности в настоящее время практически полностью уступила место методам комбинаторной химии, предусматривающим уже *направленный синтез* и биологические испытания широких рядов потенциально биоактивных соединений одного химического класса с последующим выбором наилучшего образца в данном конкретном классе. Такой подход, безусловно, является намного более эффективным и, возможно, наиболее совершенным на сегодняшний день. Но поскольку он также требует весьма существенных капиталовложений и чрезвычайно развитой инфраструктуры, в современных условиях он доступен лишь для ограниченного числа экономически развитых стран и наиболее успешных фармацевтических фирм.

С этой точки зрения все более актуальным становится совершенствование методов *направленного органического синтеза в рамках биомиметического подхода*, то есть путем подражания структуре или функции более сложных природных биологических молекул и, в конечном итоге, создания на этой основе искусственных биоподобных молекул-моделей. Поэтому понятен все возрастающий интерес химиков-органиков к синтезу органических молекул, имитирующих или блокирующих работу природных соединений. Необходимо отметить, что природа затратила миллионы лет на разработку химических процессов высокой сложности, в то время как технический прогресс в этой области, а главное понимание этих процессов на теоретическом, молекулярном, электронном уровнях пока находится на несравнимо более низкой ступени. В этой связи разработка методов направленного синтеза структурных и функциональных моделей – аналогов биологических молекул – является весьма актуальным и крайне востребованным направлением современной химической науки.

Важнейшее место в арсенале синтетических биологически активных веществ занимают фосфорорганические соединения (ФОС), которые нашли широкое применение в сельском хозяйстве в качестве пестицидов, гербицидов и регуляторов, а также в медицине – в качестве лекарственных препаратов.

В современной медицинской практике наибольшее распространение получили фосфорорганические лекарственные препараты, содержащие в молекуле четырехкоординированный атом фосфора, причем подавляющее большинство из них имеют фосфатное, либо фосфонатное строение. В последние годы в патентной литературе лавинообразно нарастает объем информации об их высокой и, зачастую, уникальной

биологической активности. Поэтому разработка новых лекарственных препаратов на основе функционализированных фосфониевых солей является весьма актуальной.

Цель работы. Разработка в рамках биомиметического подхода новых методов направленного синтеза эффективных и малотоксичных физиологически активных ФОС: четвертичных фосфониевых солей (ЧФС) с высшими алкильными радикалами – аналогов фрагментов биомембран; металлокомплексов карбоксилатных фосфатаинов – структурных аналогов активных центров металлоферментов; фосфорилированных и аминированных азотистых гетероциклов – аналогов ДНК и РНК. Получение на этой основе широких рядов указанных классов соединений, изучение их строения, реакционной способности и биологической активности с целью создания и внедрения новых отечественных лекарственных препаратов для ветеринарии и медицины.

Задачи исследования.

1. Разработка эффективных методов синтеза четвертичных солей фосфония с высшими алкильными радикалами – аналогов компонентов клеточных мембран – на основе третичных фосфинов и карбоксилатных фосфатаинов. Синтез широкого ряда указанных соединений и изучение их антибактериальной и антимикотической активности по отношению к патогенной микрофлоре.

2. Поиск новых классов физиологически активных соединений на основе исследования неизвестных ранее реакций фосфорилирования и аминирования азотистых гетероциклов – хлорнитрозамещенных бензофуранов и -фуранозов третичными фосфинами и различными аминами. Изучение строения, реакционной способности и биоактивности образующихся продуктов, разработка эффективных методов их направленного синтеза.

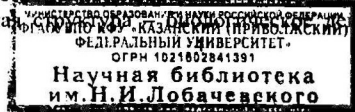
3. Синтез, изучение строения и биологической активности комплексов карбоксилатных фосфатаинов (фосфорных аналогов бетаинов аминокислот) с широким рядом биогенных металлов с целью получения структурных моделей биоцентров природных металлоферментов.

4. Модификация молекул известных лекарственных средств (сульфаниламидов и антипаразитарного препарата «фенасал») фармакофорными группами с целью усиления и расширения их биологического действия.

5. Изучение механизма биологического действия четвертичных солей фосфония с высшими алкильными радикалами путем количественного исследования как их взаимодействия с моделью биологической мембраны (1-пальмитоил-2-олеил-sn-глицеро-3-фосфатидилхолин, SIGMA) методом лентмюровских монослоев, так и самоорганизации в разбавленных растворах.

6. На основе результатов проведенных систематических исследований разработка и лабораторные испытания совместно со специалистами Казанского государственного технологического университета, Казанского государственного медицинского университета, Казанской государственной медицинской академии, Казанской государственной академии ветеринарной медицины и ОАО «Татхимфармпрепараты» новых лекарственных препаратов антипаразитарного, противонематодозного, антимикотического и антибактериального действия на основе синтезированных ФОС.

Научная новизна. Разработан и успешно реализован комплексный стратегический подход к направленному синтезу физиологически активных веществ (ФАВ), основными элементами которого являются: функционализация заведомо биоактивных соединений дополнительными фармакофорными группами; направленный синтез структурных и функциональных аналогов фрагментов природных биомембран и активных центров ферментов в соответствии с принципами биомиметики; изучение различных видов биологической активности синтезированных соединений с целью установления зависимостей «химическая структура – биологическая активность»;



биологического действия синтезированных соединений комплексом современных физических и физико-химических методов с целью дальнейшего моделирования химической структуры конкретных ФАВ. С помощью этого подхода синтезировано более 130 новых ФАВ как широкого, так и селективного действия, многие из которых по своему фармакологическому эффекту значительно превосходят известные лекарственные средства.

Разработаны новые эффективные методы алкилирования третичных фосфинов и карбоксилатных фосфатетаннов высшими галогенными алкилами, позволяющие с практически количественным выходом получать соответствующие четвертичные фосфониевые соли с широким спектром биологической активности. Впервые изучен механизм взаимодействия синтезированных солей фосфония с биологическими мембранами на модели лентгмюровских монослоев. Установлено, что полученные соли, являясь синтетическими аналогами фрагментов биомембран, взаимодействуют с лецитином и включаются в липидные слои биомембран, приводя к их разрушению. Это, вероятно, и является основной причиной их чрезвычайно высокого антибактериального и фунгицидного действия даже в сверхмалых концентрациях.

Впервые проведено систематическое исследование процессов фосфорилирования биоактивных хлорнитрозамещенных бензофураксанов и -фуразанов третичными фосфинами. При этом обнаружены принципиально новые, неизвестные ранее в литературе реакции, приводящие к образованию фосфорилированных азотистых гетероциклов, которые в зависимости от природы исходных реагентов и условий проведения реакций могут иметь структуру ЧФС, кетоилидов фосфора, а также стабильных радикалов с ОН и NH группами в бензофураксановом (фуразановом) цикле. Последние являются новым классом соединений, не имеющим аналогов в литературе. Строение синтезированных соединений установлено комплексом физических и физико-химических методов, включая метод РСА.

В сравнительном плане изучены также реакции 5,7-дихлор-4,6-динитробензофураксана и -фуразана с ближайшими аналогами фосфинов – аминами. Показано, что третичные амины в отличие от третичных фосфинов вообще не вступают в подобные реакции – вероятно, вследствие их существенно меньшей нуклеофильности. В то же время, с первичными и вторичными аминами, способными замещать атомы хлора с элиминированием хлороводорода, реакции аминирования протекают легко. При этом для дихлординитробензофураксана независимо от соотношения реагентов образуются только продукты диаминирования с замещением обоих атомов хлора в ароматическом кольце бензофураксана, тогда как для дихлординитробензофуразана при соотношении реагентов 1:2 возможно образование и продуктов монозамещения. В реакции 4,6-динитробензофураксана с додециламином выделены продукты типа комплексов Мейзенгеймера с sp^3 -атомом углерода в бензофураксановом цикле. Строение ключевых продуктов аминирования подтверждено методом рентгеноструктурного анализа. В рамках этого же подхода проведена модификация известных лекарственных препаратов (сульфаниламидов и антипаразитарного препарата «фенасал») фармакофорными группами (высшими алифатическими и гетероциклическими аминами) с целью усиления и расширения их биодействия. При этом получена серия новых ФАВ, строение которых установлено с помощью комплекса современных методов, включая РСА.

В реакциях карбоксилатных фосфатетаннов (фосфорных аналогов бетаинов аминокислот) с солями различных металлов – Zn (II), Cu (II), Hg (II), Cd (II) и Gd (III) – впервые синтезирована серия биоактивных металлокомплексов - моделей биоцентров природных ферментов. При этом показано, что в зависимости от природы металла и фосфатетаннового лиганда могут образовываться моно-, би- и полиядерные гомо- и

гетерометаллические комплексы, в которых дентатность фосфабетаинового лиганда может варьировать от 1 до 2. Строение всех соединений доказано методом РСА.

Большинство из синтезированных в работе соединений проявили выраженную антибактериальную, антимикотическую, антипротозойную и антипаразитарную активность, что свидетельствует о перспективности предложенного комплексного метода направленного синтеза ФАВ на основе функционализированных фосфониевых солей. Некоторые из синтезированных соединений по своей активности многократно превышают известные коммерческие препараты, на их основе разработаны и успешно прошли расширенные лабораторные испытания антибактериальные, антипаразитарные и антипротозойные композиции «Астра-16», «Дегельм-16» и «Депрот-14», что защищено 6 зарегистрированными заявками на патенты РФ, на все из которых получены положительные решения.

Практическая значимость работы состоит в разработке и реализации новых подходов к синтезу ФАВ. Большинство из более 130 синтезированных соединений проявили как общую широкую антибактериальную - антисептическую активность (четвертичные фосфониевые соли с высшими алкильными радикалами, алкилированные бетаины), так и, наоборот, высокоселективную активность (металлокомплексы карбоксилатных фосфабетаинов, фосфорилированные и аминированные замещенные бензофуруксаны и – фуразаны) в отношении наиболее распространенной патогенной микрофлоры человека и животных: *Candida Albicans*, *Aspergillus niger*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella p. B.*, *Klebsiella*, *Y. Enterocolitica*, *Helicobacter pylori*. Кроме того, в ряду синтезированных соединений и их композиций были выявлены эффективные потенциальные антигельминтные – антинематодозные препараты.

На этой основе были разработаны, изготовлены в Центральном лабораторном отделе ОАО «Татхимфармпрепараты» и успешно прошли расширенные лабораторные и производственные (полевые) испытания фармацевтические композиции «Астра» (антибактериальные капли и мази на вазелино-ланолиновой основе для лечения острого кератоконъюнктивита сельскохозяйственных животных – коров, свиней и овец). Разработаны и апробированы на животных антипаразитарные препараты «Дегельм» и «Депрест» – новые по механизму действия антигельминтная и антипротозойная композиции на основе четвертичных солей фосфония с высшими алкильными радикалами в качестве мембранного якоря и нитрозамещенного бензофуруксана в качестве генератора NO.

При фосфорилировании динитробензофуруксана и хлорнитробензофуразана трифенилфосфинном были получены стабильные NH-радикалы со временем жизни более двух лет, которые могут найти применение в качестве метки при метаболизме и распределении лекарственных веществ в жидкостях организма.

Материалы работы включены также в разработанные автором 3 учебных пособия (2 из них с грифом УМО, одно из которых на английском языке) и 6 патентов РФ.

На защиту выносятся:

1. Новый метод синтеза четвертичных фосфониевых солей с высшими алкильными радикалами и их комплексов с замещенными фуруксанами и – фуразанами.

2. Направленный синтез структурных и функциональных аналогов фрагментов природных биомембран – алкилированных карбоксилатных фосфабетаинов.

3. Синтез и строение металлокомплексов на основе карбоксилатных фосфабетаинов - функциональных аналогов бетаинов аминокислот.

4. Реакции третичных фосфинов с замещенными бензофуруксанами и – фуразанами, приводящие к продуктам фосфорилирования необычного строения. Разработанные на этой основе методы синтеза фосфорилированных гетероциклов.

5. Синтез и строение новых продуктов аминирования замещенных бензофураксанов и –фуранзанов первичными и вторичными аминами, в том числе, сульфаниламидами.

6. Синтез и структура новых солеобразных аддуктов 5,7-дихлор-4,6-динитробензофураксана с функционально замещенными пиридинами, имидазолами и N,N-диэтиланилином и молекулярных комплексов с пиримидинами.

7. Строение новых синтезированных соединений.

8. Биологическая активность синтезированных соединений и их композиций.

Апробация работы. Основные результаты работы представлены на V Всесоюзной конференции по металлоорганической химии (Рига, 1991); XIII - XVII Международных конференциях по химии фосфора – ICPCP (Jerusalem, Israel, 1995; Cincinnati, USA, 1998; Sendai, Japan, 2001; Birmingham, UK, 2005); XIII европейском симпозиуме по органической химии (Dubrovnik, Croatia, 2003); XVII и XVIII Менделеевских съездах по общей и прикладной химии (Казань, 2003; Москва, 2007); Международной конференции «Reaction Mechanisms and Organic Intermediates – 140 Years of Organic Structural Theory» (Saint-Petersburg, 2001); IX Международном симпозиуме по химии фосфора (Санкт-Петербург, 1993); XI – XV Международных конференциях по химии фосфорорганических соединений - ICCPCP (Kazan, 1996; Kiev, Ukraine, 1999; Saint-Petersburg, 2002; Kazan, 2005; Saint-Petersburg, 2008); Международной научной конференции «Органический синтез и комбинаторная химия» (Москва, 1999); Международной конференции «Металло-органические соединения – материалы будущего тысячелетия» (Н. Новгород, 2000); Международном симпозиуме, посвященном памяти Марка Вольпина «Modern trends in organometallic and catalytic chemistry» (Moscow, 2003); Международной конференции «Химия азотсодержащих гетероциклов» (Kharkov, 2006); IX Научной школе-конференции по органической химии (Москва, 2006); Международной конференции «Органической химия от Бутлерова до наших дней» (Санкт-Петербург, 2006); XIX Симпозиуме «Современная химическая физика» (Туапсе, 2007); Международной научно-технической и методической конференции «Современные проблемы специальной технической химии» (Казань, 2007); Российской конференции «Фармакология и токсикология ФОС и др. биоактивных веществ» (Казань, 2008); II съезде ветеринарных фармакологов и токсикологов (Казань, 2009); VI Всероссийской конференции по химии полиядерных соединений и кластеров (Казань, 2009). V Международном симпозиуме «Design and Synthesis of Supramolecular Architectures» (Kazan, 2009).

Публикации. Основные результаты диссертации изложены в 24 статьях, опубликованных в зарубежных и центральных российских изданиях, а также в тезисах 71 доклада на конференциях различного уровня (региональных, всероссийских, международных) и в 6 патентах РФ. Общее число публикаций 189, из них 65 статей в реферируемых научных журналах. Материалы работы включены также в 3 учебных пособия (2 из них с грифом УМО, одно из которых на английском языке). Опубликованные по теме диссертации работы написаны в соавторстве с научным консультантом д.х.н. проф. Черкасовым Р.А. Д.х.н. проф. Галкин В.И. и д.х.н. проф. Бердников Е.А. принимали участие в обсуждении результатов исследования. К.х.н. с.н.с. Бахтиярова Ю.В. принимала участие в разработке методов синтеза и получения карбоксилатных фосфатаинов. Д.ф.-м.н. проф. Тагиров М.С., к.ф.-м.н. с.н.с. Розенцвайг Ю.К. и к.ф.-м.н. с.н.с. Орлинский С.Б. принимали участие в записи и интерпретации ЭПР-спектров. Д.ф.-м.н. проф. Ильясов А.В. и к.ф.-м.н. с.н.с. Гнездилов О.И. принимали участие в записи и интерпретации ЯМР-спектров. К.х.н. Сахибуллина В.Г. записывала и интерпретировала ИК-спектры. Ph.D. научный сотрудник университета Мюнстера (ФРГ) Г. Люфтомани записывал и интерпретировал масс-спектры. Сотрудники ИОФХ д.х.н. Катаева О.Н., д.х.н. Литвинов И.А. и к.х.н. Криволапов Д.Б. выполняли рентгеноструктурные исследования. Соавторы из КГТУ д.х.н., проф. Фаляхов И.Ф., д.х.н.

проф. Юсупова Л.М. и к.х.н. доц. Левинсон Ф.С. предоставили для исследования замещенные бензофуруксаны и бензофуразаны, а также принимали участие в обсуждении полученных результатов. Д.фарм.наук проф. Егорова С.Н. (КГМУ) руководила разработкой лекарственных форм, доктора ветеринарных наук КГАВМ проф. Шакуров М.Ш. и проф. Лутфуллин М.Х. руководили лабораторными и полевыми испытаниями на животных глазных мазей и капель «Астра», антипаразитарных препаратов «Дегельм» и «Депрот». Заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии Нижегородской государственной медицинской академии д.х.н. проф. Мельникова Н.Б. с сотрудниками изучали механизм взаимодействия синтезированных фосфониевых солей с моделями клеточных мембран. Совместно с д.х.н. проф. Захаровой Л.Я. (ИОФХ) изучалась самоорганизация солей фосфония. Бакеевой Р.Ф. (КГТУ) исследованы лиотропные жидкокристаллические фазы солей фосфония. Микробиологические исследования проведены доцентом кафедры микробиологии КГМА к.м.н. Шулаевой М.П. под руководством заведующего кафедрой д.м.н. проф. Поздеева О.К. Аспиранты Канчурина Э.Э., Тудрий Е.В., Стахеев В.В., Спиридонова М.П., Тахаутдинова Г.Л. и Сахабудинова Н.А., у которых автор является научным руководителем, принимали участие в экспериментальной части исследования.

Автор выражает глубокую признательность научному консультанту проф. Р.А.Черкасову и всем принимавшим участие в настоящем исследовании за сотрудничество.

Работа выполнена на кафедре высокомолекулярных и элементоорганических соединений Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского (Приволжского) федерального университета в рамках основного научного направления «Синтез, строение, реакционная способность и практическое применение органических, элементоорганических и координационных соединений», а также при финансовой поддержке совместной российско-американской программы «Фундаментальные исследования и высшее образование» (BRHE): грант CRDF № BP4M07 и грант Минобрнауки РФ № 2.2.2.2/5013.

Личный вклад автора в работы, выполненные в соавторстве и включенные в диссертацию, состоит в формировании направления, активном участии во всех этапах исследования, постановке конкретных задач и их экспериментальном решении, обсуждении и интерпретации полученных данных, формулировании выводов, написании и оформлении статей, патентов и тезисов докладов. Большая часть экспериментальных результатов получена автором лично или при его непосредственном участии.

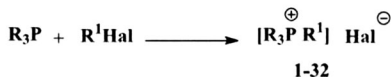
Объем и структура работы. Диссертационная работа изложена на 383 страницах компьютерного текста, содержит 148 рисунков и 32 таблицы, и состоит из введения, четырех глав, выводов, списка литературы (243 ссылки на публикации отечественных и зарубежных авторов) и Приложения на 16 страницах. Первая глава состоит из литературного обзора, посвященного анализу основных тенденций развития в области синтеза, свойств и реакционной способности четвертичных солей фосфония и фосфатаиновок металлокомплексов, и обсуждению собственных результатов по этой теме. Во второй главе, которая также начинается с литературного обзора, посвященного химии и биологическим свойствам замещенных бензофуруксанов и –бензофуразанов, обсуждаются результаты проведенного исследования по фосфорилированию и аминированию азотистых гетероциклов. В третьей главе приведены результаты разработки антибактериальных, антимикотических, антипротозойных и антигельминтных фармацевтических композиций на основе синтезированных соединений и их апробация. В четвертой главе (экспериментальная часть) приведены физико-химические и спектральные характеристики синтезированных соединений и методики их синтеза. В приложениях приведены акты испытаний синтезированных соединений на биологическую активность.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Синтез и биологическая активность четвертичных солей фосфония и перспективы их медицинского применения

Вероятно, первый синтез фосфониевой соли – иодида фосфония, по мнению Ван Везера, был осуществлен в 1817 году из PH_3 и HI . И только через 135 лет появились первые сообщения о биологической активности солей фосфония с органическими радикалами со сравнительно высокой молекулярной массой, которые проявляли дезинфицирующие свойства.

Нами разработана эффективная методика получения четвертичных фосфониевых солей на основе высших галоидных алкилов и третичных фосфинов, позволяющая получать целевые продукты с высоким выходом:



$\text{R}_3 = \text{Ph}_3, \text{Bu}_3, (\text{Et}_2\text{N})_2\text{Ph}, \text{Hex}_3, \text{MePh}_2, (\text{F-C}_6\text{H}_4)_3, (\text{MeOC}_6\text{H}_4)_3$

$\text{R}^1 = \text{Bu}, i\text{-Bu}, \text{Hex}, \text{CH}_2\text{Ph}, \text{Oct}, \text{C}_{12}\text{H}_{25}, \text{C}_{14}\text{H}_{29}, \text{C}_{16}\text{H}_{33}, \text{C}_{18}\text{H}_{37}$

$\text{Hal} = \text{Cl}, \text{Br}$

Разнообразие синтезированных солей фосфония представлено на рис. 1.

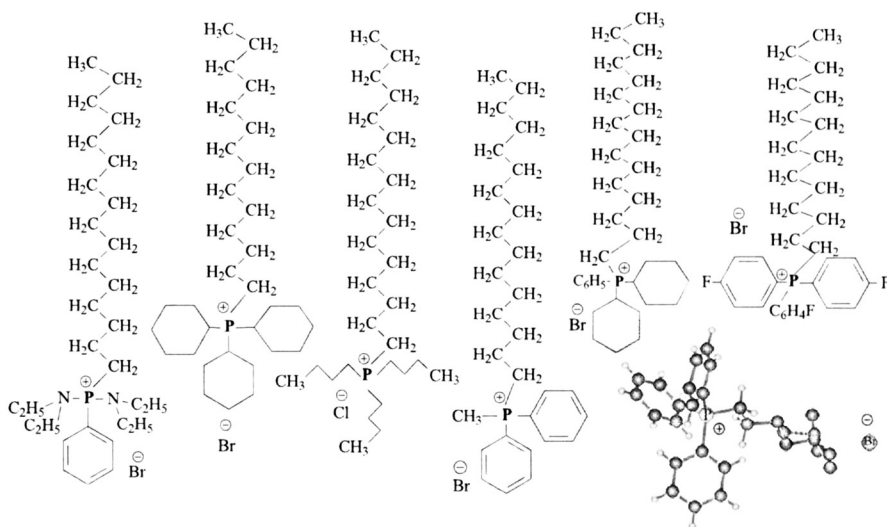


Рис. 1. Структура некоторых синтезированных ЧФС

Важно отметить, что синтезированные и описанные в данном исследовании ЧФС (рис.1,2), являются структурными аналогами фрагментов фосфолипидов мембран биологической клетки (рис. 3):

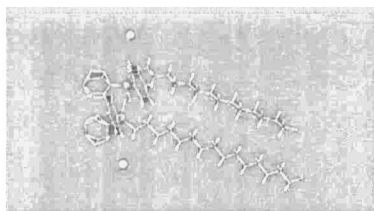


Рис. 2. Геометрия в кристалле соли

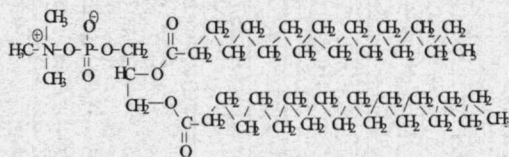
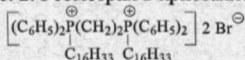


Рис.3. Липид биологической мембраны

Проведенное исследование биологической активности синтезированных соединений показало, что наиболее высокую активность проявляют те фосфониевые соли длина углеродной цепи которых составляет от C_8 до C_{20} (табл.1). Один из наиболее вероятных механизмов антибактериального действия синтезированных солей, по-видимому, связан с повреждением цитоплазматической мембраны бактерий путем встраивания этих солей в ее структуру.

Для проверки данной гипотезы нами были проведены совместные исследования с группой проф. Мельниковой Н.Б. (Нижегородская государственная медицинская академия) по изучению механизма взаимодействия четвертичных солей фосфония с моделями биологических мембран на основе лецитина (1-пальмитоил-2-олеил-sn-глицеро-3-фосфатидилхолин, SIGMA Chemical Co) методом ленгмюровских монослоев. Полученные данные свидетельствуют о том, что бромиды фосфония взаимодействуют с лецитином и, следовательно, могут включаться в липидные слои биомембран (эффект «мембранного якоря»), кардинально изменяя их состояние. Увеличение эффективной молекулярной площади лецитина в мембране приводит к образованию пор и, в предельном случае, к разрыву мембраны, что действительно может служить объяснением антибактериального и антимикотического эффекта синтезированных трифенил(алкил)фосфонийбромидов (табл.1).

Необходимо отметить, что полученные нами соли фосфония, в отличие от аммониевых аналогов, которые при 100°C распадаются на исходные соединения, являются термически стабильными в широком диапазоне температур, о чем свидетельствуют данные термогравиметрии в сочетании с дифференциальной сканирующей калориметрией (ТГ-ДСК) и отражено на рис. 4:

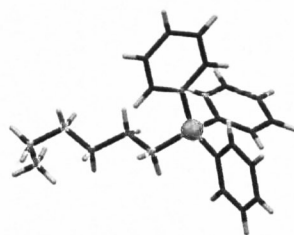
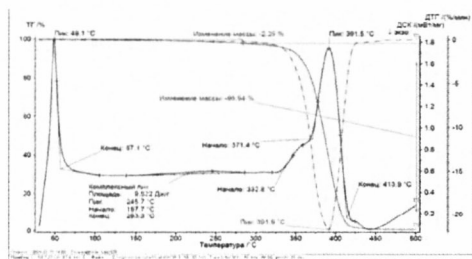


Рис. 4. Дериватограмма соли фосфония $[(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{P}^+\text{C}_{14}\text{H}_{29}]\text{Cl}^-$ по данным ТГ-ДСК и геометрия соли $[(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{P}^+\text{C}_6\text{H}_{13}]\text{Br}^-$ по данным РСА

Таблица 1. Оценка биоактивности ЧФС (зона задержки роста микрофлоры в мм)

Соединение	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella p. B.</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Staph. aureus</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Y. Enterocolitica</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Ps. Aeruginosa</i>	<i>Candida Albicans</i>
$[(C_6H_9)_3P^+C_{14}H_{29}]Cl^-$	24	15	13	17	18	20	13	18	21
$[(C_6H_9)_3P^+C_{16}H_{33}]Br^-$	13	14	-	21	-	-	17	13	19
$[(C_6H_5)_3P^+C_8H_{17}]Br^-$	15	-	-	18	-	-	9	6	13
$[(C_6H_5)_3P^+C_{10}H_{21}]Cl^-$	9	15	-	24	-	15	13	13	18
$[(C_6H_5)_3P^+C_{12}H_{25}]Br^-$	14	12	-	18	-	17	11	9	16
$[(C_6H_5)_3P^+C_{14}H_{29}I]Br^-$	17	11	-	22	-	17	15	10	18
$[(C_6H_5)_3P^+C_{14}H_{29}I]Cl^-$	21	12	9	24	15	21	9	9	24
$[(C_6H_5)_3P^+C_{16}H_{33}]Br^-$	15	12	10	21	14	14	12	11	25
$[(C_6H_5)_3P^+C_{16}H_{33}]Cl^-$	17	14	-	24	-	-	17	15	27
$[(C_6H_5)_3P^+C_{18}H_{37}]Br^-$	10	13	-	21	-	-	8	10	15
$[(n-F-C_6H_4)_3P^+C_{16}H_{33}]Br^-$	9	9	-	15	-	14	-	6	10
$[Ph_2P^+MeC_{16}H_{33}]Br^-$	11	12	-	20	-	12	-	9	-
$[(Et_2N)_2P^+PhC_{16}H_{33}]Br^-$	12	-	-	26	-	-	-	10	-
Хлоргексидин биглюконат (контроль)	-	7	5	-	-	6	-	6	-

Совместно с профессором Бакеевой Р.Ф. (Казанский государственный технологический университет) изучены лиотропные жидкокристаллические фазы солей фосфония и, в частности, соли $[(C_6H_5)_3P^+C_{16}H_{33}]Br^-$ в присутствии небольшого количества воды и установлена оптическая анизотропия. Методом пенетрации показано наличие в системе $[(C_6H_5)_3P^+C_{16}H_{33}]Br^- + H_2O$ «веерной» текстуры (рис. 5а) при скрещенных николях, то есть в поляризованном свете, тогда как в проходящем свете кристаллов не наблюдается (рис. 5б). Появление «веерной» текстуры свидетельствует о формировании при 25⁰С гексагональной мезофазы - гексагональной упаковки цилиндрических мицелл. Известно, что явления самоорганизации и самоассоциации играют важную роль в биологических процессах и обеспечивают нормальную жизнедеятельность клетки. Жидкокристаллическое состояние в живой клетке ответственно, например, за такие функции, как рост и механическая реакция на внешний химический раздражитель.

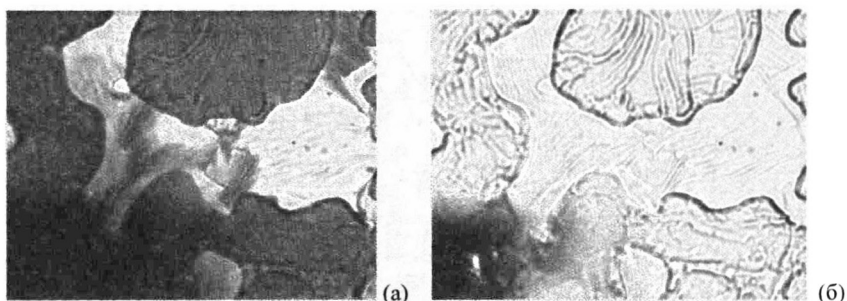


Рис. 5 Оптическая текстура, полученная методом пенетрации из системы $[(C_6H_5)_3P^+C_{16}H_{33}]Br^- + H_2O$ (никколи скрещены (а) и параллельны (б))

Жидкокристаллические структуры обнаружены также и в системе $[(C_6H_5)_3P^+C_{18}H_{37}]Br^- + H_2O$ (рис. 6).

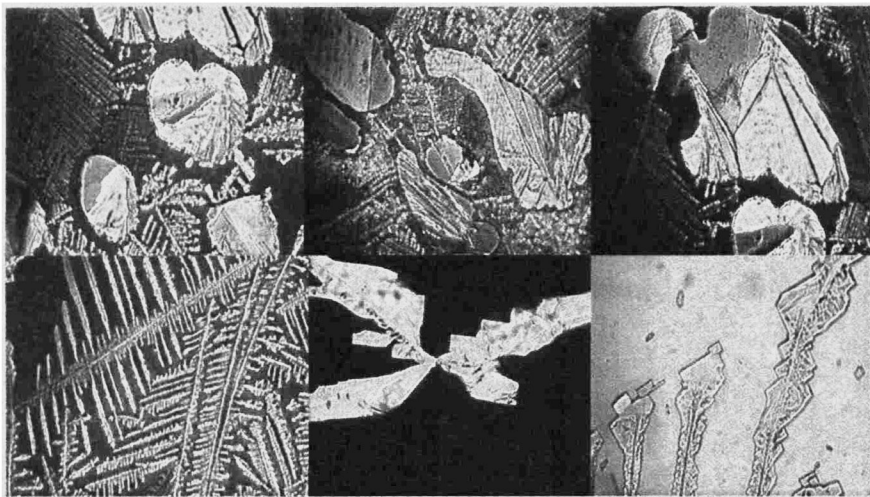


Рис. 6. Оптические текстуры, при скрещенных николях для системы $[(C_6H_5)_3P^+C_{18}H_{37}]Br^- + H_2O$ (текстуры термотропных смектических жидких кристаллов)

Из полученных выше результатов следует, что ЧФС с высшими алкильными радикалами способны к самоорганизации в растворе. Этот факт был надежно подтвержден также при исследовании агрегации алкилтрифенилфосфоний бромидов с различной длиной алкильных радикалов, которое было выполнено нами совместно с группой профессора Л.Я. Захаровой (ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН) с использованием широкого комплекса методов, включая тензиометрию, кондуктометрию, потенциометрию, ЯМР-самодиффузию, динамическое рассеяние света. Установлено, что в водных растворах при концентрации выше ККМ (критическая концентрация мицеллообразования) образуются агрегаты с гидродинамическим радиусом R_h 1-2 нм. Заслуживающим внимания является тот факт, что для гексадецильного производного трифенилфосфониевых солей получены на порядок более низкие ККМ, чем для типичного катионного ПАВ с аммонийной головной группой - цетилтриметиламмоний бромида. Установленная способность изученных ЧФС с высшими алкильными радикалами к самоорганизации даже в разбавленных растворах проливает дополнительный свет и на механизм их биологического действия. Отмеченная выше высокая биологическая активность этих соединений даже в предельно низких концентрациях обусловлена, видимо, и тем, что клеточные мембраны патогенной микрофлоры подвергаются атаке не отдельными молекулами ЧФС, а их наноразмерными ансамблями, образующимися при этих концентрациях.

2. Синтез и биологическая активность комплексов ЧФС с бензофуруксанами и –фуразанами

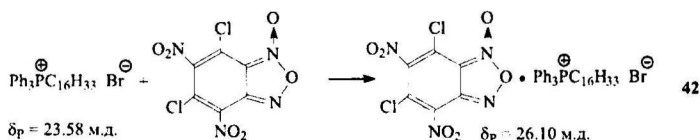
Как было показано нами и отмечено в литературе, ЧФС с высшими алкильными заместителями у атома фосфора, с одной стороны, и функционально-замещенные бензофуруксаны, с другой, обладают выраженной антибактериальной и фунгицидной активностью. Представлялось интересным объединить эти качества в одной молекуле.

Для этого были изучены возможности химического взаимодействия ЧФС с указанными выше гетероциклическими соединениями. При этом из литературных данных известно, что, например, 5,7-дихлор-4,6-динитробензофуруксан (один из объектов наших

исследований) способен образовывать комплексы с катионами щелочных и щелочноземельных металлов, строение которых во многих случаях было установлено методом РСА. Мы изучили возможность образования подобных комплексов и с фосфониевыми катионами.

В этой связи в настоящей части исследования мы вовлекли в такое взаимодействие синтезированные нами и описанные выше ЧФС с высшими алкильными радикалами и обозначенный выше бензофуроксан, а также аналогично замещенный бензофуразан.

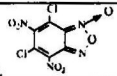
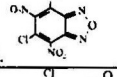
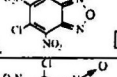
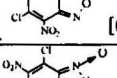
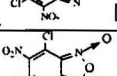
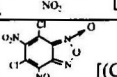
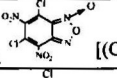
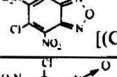
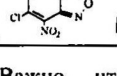
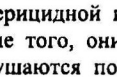
Реакции проводили в эфире, в котором замещенные фуроксан и фуразан растворяются хорошо, а ЧФС практически нерастворимы. В эфирные растворы фуроксана (фуразана) добавляли полуторкротный избыток соли фосфония. Оказалось, что реакции протекают в гетерогенном варианте очень легко с ярко выраженным глубоким изменением окраски. Основная часть ЧФС при этом за короткое время переходила в эфирный раствор, а непрореагировавшая ее часть оставалась в осадке. Раствор отделяли от осадка и удаляли эфир в вакууме. Выделенные таким образом комплексы 33–42 (табл. 2) представляют собой легкоплавкие кристаллы, хорошо растворимые в воде и большинстве органических растворителей, с характерной яркой окраской от оранжевой до малиновой. В качестве примера ниже представлена реакция трифенилгексадецилфосфонийбромид 18 с 5,7-дихлор-4,6-динитробензофуроксаном с образованием комплекса 42:



В результате этой реакции был получен аддукт - легкоплавкая оранжево-желтая кристаллическая масса с $T_{пл.}$ около 25°C. В ЯМР ^{31}P спектре атом фосфора проявляется в виде единственного синглета с δ_P 26.10 м.д. Этот сигнал смещен по сравнению с исходной ЧФС (δ_P 23.58 м.д.) в слабые поля на 2.52 м.д., что однозначно свидетельствует о протекании реакции и, в то же время, сохранении фосфониевого характера атома фосфора, а не фосфоранового, как это также можно было предполагать теоретически. Аналогично протекают реакции и других ЧФС с изучаемыми фуроксаном и фуразаном. Помимо изменения химического сдвига ядра атома фосфора в образующихся комплексах, отчетливо меняются и все остальные параметры по сравнению с исходными соединениями: данные элементного анализа (соответствующие по составу комплексам 1:1), ИК-спектральные характеристики, температуры плавления (во всех случаях образуются окрашенные легкоплавкие кристаллы), растворимость (комплексы в отличие от исходных компонентов легко растворяются в воде и большинстве органических растворителей), биологическая активность (она существенно выше, чем у исходных компонентов и представлена в табл. 2).

Из полученных данных следует вывод об образовании донорно-акцепторных комплексов между ЧФС и исследуемыми фуроксаном и фуразаном, в которых фосфониевый атом фосфора координируется с одним или несколькими отрицательно заряженными атомами кислорода указанных нитрозамещенных гетероциклов, как это известно в литературе для подобных их комплексов со щелочными и щелочноземельными металлами. В таблице 2 представлена антибактериальная и антимикотическая активность десяти полученных таким образом комплексов на штаммах патогенной микрофлоры человека и животных.

Таблица 2. Биологическая активность комплексов ЧФС с 5,7-дихлор-4,6-динитробензофураксаном и 5,7-дихлор-4,6-динитробензофуразаном

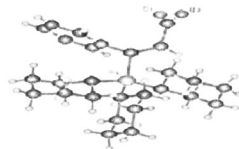
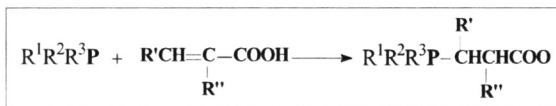
Соединение	Зона ингибирования роста бактерий и грибов (мм)				
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella p.B</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida Albicans</i>
33.  $[(C_4H_9)_3PC_{14}H_{29}]^+ Cl^-$	13	12	9	31	30
34.  $[(C_4H_9)_3PC_{14}H_{29}]^+ Br^-$	16	10	12	27	Больше 40
35.  $[(C_4H_9)_3PC_{16}H_{33}]^+ Br^-$	16	11	15	19	Больше 40
36.  $[(C_6H_5)_3PC_{10}H_{21}]^+ Br^-$	18	17	16	25	18
37.  $[(C_6H_5)_3PC_{12}H_{25}]^+ Br^-$	20	17	16	26	22
38.  $[(C_6H_5)_3PC_{14}H_{29}]^+ Br^-$	21	11	18	40	16
39.  $[(CH_3)_2PC_6H_5C_{16}H_{33}]^+ Br^-$	9	15	9	20	-
40.  $[(C_6H_5)_2PCH_3C_{16}H_{33}]^+ Br^-$	9	6	9	25	Больше 40
41.  $[(C_6H_5)_2PCH_3C_{16}H_{33}]^+ Br^-$	12	9	11	28	Больше 40
42.  $[(C_6H_5)_3PC_{16}H_{33}]^+ Br^-$	10	13	11	19	17

Важно, что синтезированные комплексы обладают одновременно высокой бактерицидной и высокой антимикотической активностью при низких концентрациях. Кроме того, они термически стабильны (по данным метода ТГ-ДСК) до 200°C, и не разрушаются под действием мыльного раствора, так как сами являются катионными ПАВ, что делает их перспективными лекарственными и дезинфицирующими средствами в медицине и ветеринарии.

3. Синтез и биологическая активность ЧФС на основе карбоксилатных фосфатаинов

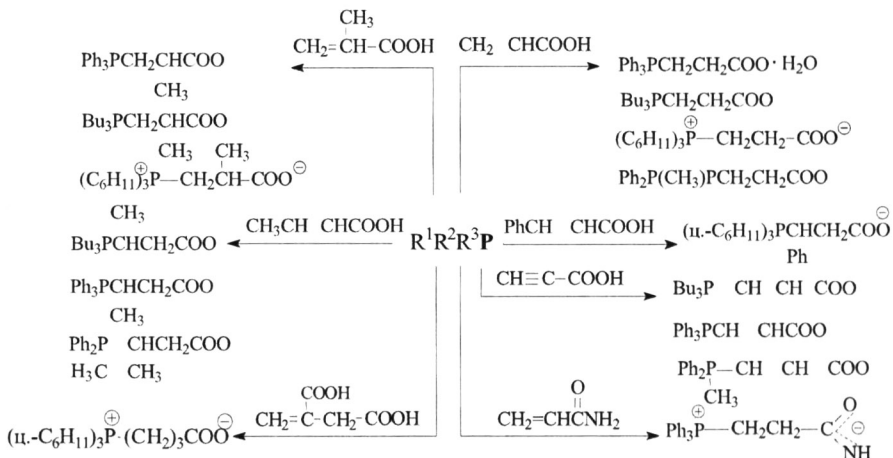
До начала наших исследований в литературе имелись лишь эпизодические и, зачастую, весьма противоречивые сведения о карбоксилатных фосфатаинах – аналогов бетайнов органических аминокислот. Поэтому в нашей группе были проведены систематические исследования в области синтеза, изучения строения и реакционной

способности карбоксилатных фосфатаинов на основе третичных фосфинов и непредельных карбоновых кислот:



Реакции третичных фосфинов с непредельными моно- и дикарбоновыми кислотами в большинстве случаев протекают в хлороформе или ацетонитриле достаточно легко при комнатной температуре с практически количественным образованием соответствующих фосфатаинов, представляющих собой ЧФС, подобные описанным выше, однако содержащие в своем составе в качестве противоиона функциональную карбоксилатную группу, способную активно вступать в различные химические реакции – в частности, в реакции алкилирования и комплексообразования, наиболее интересные в плане данной работы.

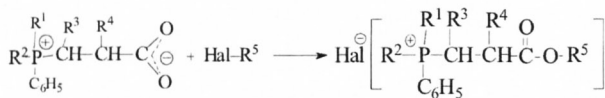
Строение большинства синтезированных в нашей группе и представленных ниже карбоксилатных фосфатаинов доказано методом РСА.



3.1. Реакции карбоксилатных фосфатаинов с высшими галоидными алкилами

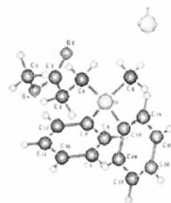
Еще одна модель компонентов биологических мембран была получена нами как раз на основе фосфатаинов – аналогов бетаинов аминокислот. Эти структуры еще на один шаг приближают нас к природной мембране, так как кроме гидрофобного «хвоста» они содержат и важный природный сложноэфирный фрагмент $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, соединяющий в живой мембране гидрофильную «голову» и гидрофобный «хвост». Одним из вариантов создания таких структур может служить процесс алкилирования фосфатаинов галоидными алкилами.

Карбоксилатные фосфатаины при комнатной температуре легко вступают в реакции алкилирования низшими галоидными алкилами, тогда как реакции с высшими алкилгалоидными требуют более жестких условий. Во всех случаях реакции протекают с образованием соответствующих фосфониевых солей:



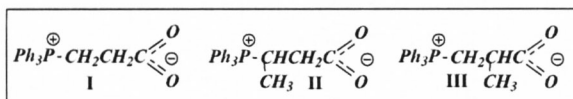
$\text{R}^1, \text{R}^2, \text{R}^3, \text{R}^4 = \text{CH}_3, \text{C}_6\text{H}_5; \quad \text{Hal} = \text{Cl}, \text{Br}, \text{I}$

$\text{R}^5 = \text{CH}_3; \text{C}_2\text{H}_5; \text{C}_3\text{H}_7; \text{C}_4\text{H}_9; \text{C}_5\text{H}_{11}; \text{C}_6\text{H}_{13}; \text{C}_8\text{H}_{17}; \text{C}_{10}\text{H}_{21}; \text{C}_{12}\text{H}_{25}; \text{C}_{14}\text{H}_{29}; \text{C}_{16}\text{H}_{33}; \text{C}_{18}\text{H}_{37}$

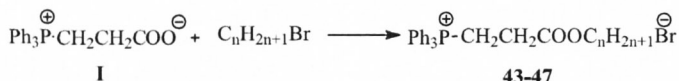


При этом следует отметить, что для высших алкилгалогенидов значительное влияние на скорость и легкость протекания реакции оказывает и природа исходного фосфабетаина.

Мы изучили процессы алкилирования ацилатных фосфабетаинов **I** – **III** широким набором алкилгалогенидов, различающихся длиной углеводородной цепи.



Так, реакции β -трифенилфосфонийэтилкарбоксилата **I** с высшими 1-бромалканами протекают в течение 6 часов при температуре 50⁰С в среде хлороформа:



$n = 10$ (**43**), 12 (**44**), 14 (**45**), 16 (**46**), 18 (**47**)

Продукты реакций **43–47** (табл. 3) – β -(карбоксиалкил)этилтрифенилфосфоний бромиды выделялись из реакционной смеси (выход от 80 до 95%) путем переосаждения диэтиловым эфиром и представляли собой маслообразные вещества, некоторые из них кристаллизуются со временем. Исключение составляют продукты **46** и **47**, которые были получены в виде белых кристаллов; их структура установлена методом РСА.

Структура длинноцепочечных солей фосфония была установлена методами ИК, ЯМР-спектроскопии, данными элементного и рентгеноструктурного анализа. Термическая устойчивость этих соединений изучена методом ТГ-ДСК. В качестве примера на рис. 7 приведена геометрия (по данным РСА) образующейся в результате взаимодействия β -трифенилфосфонийэтилкарбоксилата **I** с гексадецилбромидом длинноцепочечной фосфониевой соли **46** (табл. 5):

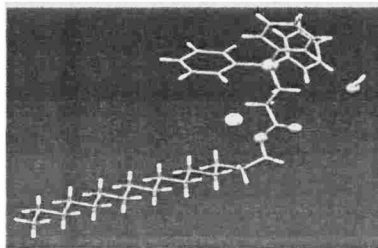
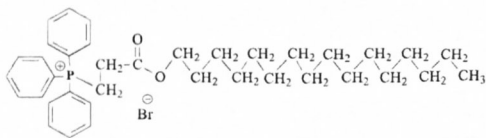


Рис. 7. Геометрия в кристалле соли $\text{Ph}_3\text{P}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOC}_{16}\text{H}_{33}\text{Br}^-$ **46**

Надмолекулярная структура соли **46**, крайне напоминающая модель природной мембраны с упорядоченным расположением длинноцепочечных фрагментов, показана на рис. 8:

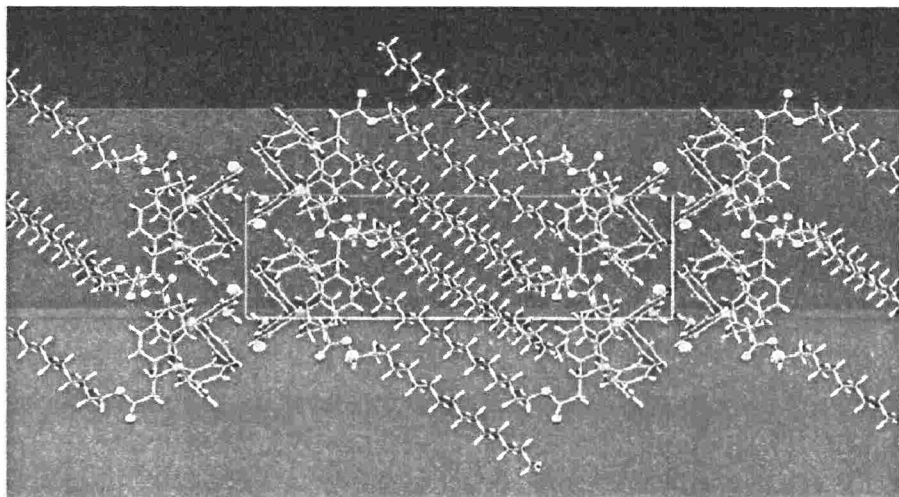
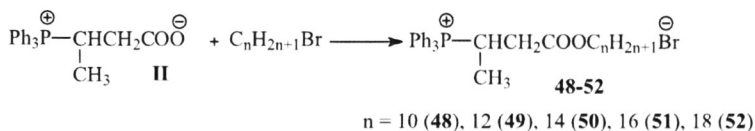
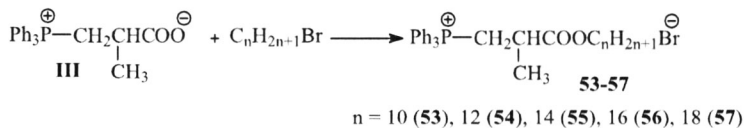


Рис. 8. Фрагмент кристаллической упаковки $\text{Ph}_3\text{P}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOC}_{16}\text{H}_{33}\text{Br}^-$ **46**

Реакции β -трифенилфосфоний- β -метилэтилкарбоксилата **II** с высшими 1-бромалканами протекают в более жестких условиях - по-видимому, это связано с наличием стерических препятствий, создаваемых метильным радикалом в β -положении относительно карбоксилатной группы бетаина. Реакцию проводили в течение 10 часов при кипении хлороформа. Продукты реакций **48-52** осаждали из реакционной смеси диэтиловым эфиром и представляли собой маслообразные вещества:



Реакции β -трифенилфосфоний- α -метилэтилкарбоксилата **III** с высшими 1-бромалканами протекают в еще более жестких условиях - по-видимому, это связано с наличием метильного радикала уже в α -положении относительно карбоксилатной группы бетаина. Это еще раз подтверждает предположение о создаваемых метильной группой стерических препятствиях процессу алкилирования ацилатного фрагмента. Реакции проводили в течение 12 часов в кипящем хлороформе. Продукты реакций **53-57**, осаждали из реакционной смеси диэтиловым эфиром, эти соединения также представляют собой белые маслообразные продукты:



3.2. Антимикробное и антимикотическое действие сложных эфиров карбоксилатных фосфатабиотиков

Исследование биологической активности фосфонийбромидов, полученных в результате алкилирования фосфатабиотиков, на сегодняшний день удалось провести только для производных фосфатабиотика I. При этом установлено, что в отличие от самих карбоксилатных фосфатабиотиков и получающихся из них фосфонийзамещенных сложных эфиров с низшими алкильными группировками, которые не проявляют сколь-либо заметной биологической активности, их высшие аналоги обладают крайне высокой биологической активностью (табл. 3).

Таблица 3. Биоактивность β -(карбоксиалкил)этилтрифенилфосфоний-бромидов 43-47

Соединение	Зона ингибирования роста бактерий и грибов, (мм)				
	<i>Escher. coli</i>	<i>Staph. aureus</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Proteus Mirabilis</i>	<i>Candida Albicans</i>
43. $[\text{Ph}_3\text{P}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOC}_{10}\text{H}_{21}]\text{Br}^-$	20	15	21	18	24
44. $[\text{Ph}_3\text{P}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOC}_{12}\text{H}_{25}]\text{Br}^-$	22	20	13	23	28
45. $[\text{Ph}_3\text{P}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOC}_{14}\text{H}_{29}]\text{Br}^-$	17	25	14	10	24
46. $[\text{Ph}_3\text{P}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOC}_{16}\text{H}_{33}]\text{Br}^-$	18	25	11	17	22
47. $[\text{Ph}_3\text{P}^+\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOC}_{18}\text{H}_{37}]\text{Br}^-$	14	23	13	8	24

Из приведенных выше данных следует, что синтезированные соединения 43-47 при достаточно низких концентрациях (от 1% до 0.01%) проявляют высокую антимикотическую и антимикробную активность в отношении патогенной микрофлоры человека и животных, что делает их весьма перспективными для дальнейшего применения в качестве дезинфицирующих и лекарственных средств. Есть все основания полагать, что аналогичную высокую биологическую активность проявят и остальные синтезированные нами соли 48-57. Интересным является и тот факт, что синтезированные соединения одновременно проявляют как антимикробную, так и антимикотическую активность, что не характерно для известных и используемых в настоящее время в медицинской практике антибиотиков.

4. Синтез, структура и биоактивность металлокомплексов на основе карбоксилатных фосфатабиотиков

Известно, что многие белки и ферменты являются металлокомплексами: в их активных центрах содержатся ионы металлов, которые могут играть роль кислоты Льюиса или редокс-агента, либо выполнять функцию стабилизатора структуры белка. Фактически металлофермент можно рассматривать как очень большое координационное соединение, в котором органическая часть молекулы представляет собой лиганд, связанный с соответствующим металлоцентром. В биомолекулярной химии к биометаллам относят: Fe, Zn, Cu, Mo, Co, Ni, Mn, V, Ca, Mg, K, Na, Li.

С целью моделирования активных центров ферментов нам представлялось весьма привлекательным синтезировать комплексы металлов на основе структурных аналогов бетаинов аминокислот – карбоксилатных фосфатабиотиков.

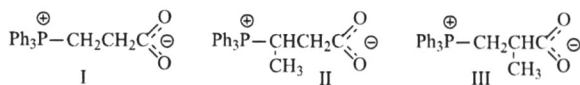
4.1. Синтез и структура аналогов металлобиокомплексов на основе иона Zn (2+) и фосфатабиотиковых аналогов аминокислот (I-III)

Цинк – необходимый элемент всех растений и животных – важен и в биохимии человека. Он входит в состав активных центров более 300 ферментов, из которых наиболее распространены гидролазы (например, щелочная фосфатаза и карбоксипептидаза А),

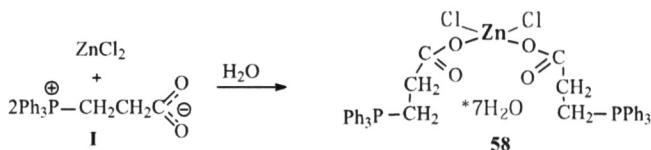
трансферазы (например, ДНК- и РНК-полимераза), оксидоредуктазы (например, алкогольдегидрогеназа и супероксиддисмутаза) и ликазы (карбоангидраза). Во многих таких системах ион Zn^{2+} , не обладающий редокс-активностью, является кислотой Льюиса, вокруг которой субстраты координируются, поляризуются и, следовательно, активируются.

Исходя из структурной аналогии карбоксилатных фосфатаинов с протеиногенными аминокислотами, мы предположили, что их металлопроизводные – комплексы или соли – могут обладать биологически активными свойствами по отношению к различным субстратам. Вместе с тем, способы получения и свойства металлосодержащих производных фосфатаинов практически не изучены.

Из большого разнообразия синтезированных ацилатных фосфатаинов были выбраны наиболее доступные из них - соединения **I-III**, полученные на основе трифенилфосфина и, соответственно, акриловой (**I**), метакриловой (**II**) и кротоновой (**III**) кислот. При этом мы полагали, что наличие или отсутствие донорной метильной группы, а также ее расположение относительно ацилатного донорного центра может сказаться как на легкости образования металлопроизводных, так и на их структуре.



В качестве доступного и, в то же время, биологически важного микроэлемента, в этой части работы был выбран ион цинка, использованный в реакциях с бетаинами в виде дихлорида. Вопреки ожиданию, реакция между $ZnCl_2$ и β -трифенилфосфоний-этилкарбоксилатом **I** в соотношении 1:2 в водной среде не приводит к продуктам анионного обмена с образованием диацилата цинка и хлорид-анионов в качестве противоионов трифенилфосфониевого центра. Металл ведет себя в этом случае как Льюисова кислота и присоединяет две молекулы бетаина по их ацилатному фрагменту с образованием кристаллического металлокомплекса **58**:



Состав комплекса **58** и его строение подтверждены результатами элементного анализа и физических методов. В ИК спектре комплекса наблюдается характеристическая полоса поглощения связанной карбоксилатной группы при 1610 см^{-1} . В ЯМР ^{31}P -спектре фиксируется единственный сигнал атома фосфора в области 28.4 м.д., что является характерным для ядра атома фосфора фосфониевых структур. Следует отметить, что сам исходный трифенилфосфонийэтилкарбоксилат резонирует в области 23.1 м.д.

Молекулярная структура мономерного комплекса доказана методом РСА (рис. 9), атом цинка имеет тетраэдрическую конфигурацию и связан монодентатно с двумя молекулами лиганда и двумя атомами хлора. В каждом из лигандов атом кислорода, не связанный донорно-акцепторной связью с атомом цинка, образует более короткую связь с атомом углерода. При этом в одном из лигандов $\text{C}=\text{O}$ связь находится в заслоненной конформации со связью $\text{C}-\text{C}$, а связь $\text{C}-\text{P}$ имеет транс-ориентацию относительно связи $\text{C}-\text{C}$, таким образом конформация цепи $\text{O}=\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{P}$ в этом лиганде *цис*, *транс*. Второй лиганд комплекса имеет *гош*, *транс*-конформацию. Также в кристаллическую решётку

комплекса входят семь молекул воды, что приводит к наличию сильных водородных связей. Надмолекулярная структура комплекса представляет собой слоистую структуру, состоящую из гидрофильных (образованных за счёт координационных центров и кристаллизационной воды) и гидрофобных слоев (образованных за счёт фенильных фрагментов).

Совмещенным методом ТГ-ДСК также показано наличие в кристаллах комплекса семи молекул воды (рис. 9):

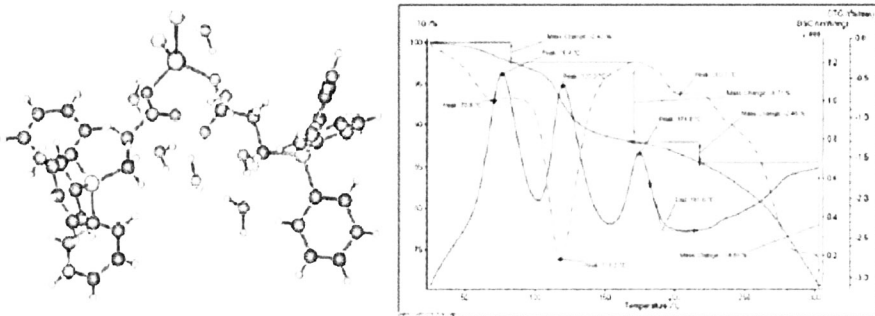


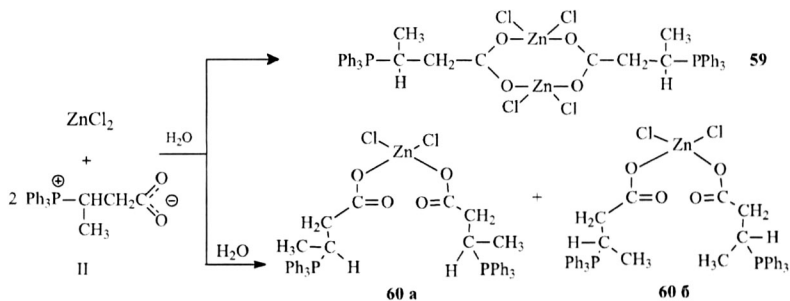
Рис.9. Геометрия комплекса **58** и его дериватограмма

Таким образом, данные ТГ-ДСК находятся в хорошем соответствии с предполагаемой структурой. Эндотермические эффекты при 76.4 °C, 120.0 °C и 174.6 °C сопровождаются потерей массы в 2.42%, 9.71% и 2.48%, что соответствует последовательному отрыву молекул кристаллизационной воды: одной, пяти и одной соответственно (рис. 9).

Было интересно проследить влияние стерической загруженности карбоксилатной группы путем введения в реакции с хлоридом цинка β -трифенилфосфоний- β -метилэтилкарбоксилата **II** и β -трифенилфосфоний- α -метилэтилкарбоксилата **III** содержащих метильный радикал соответственно в β - и α -положении относительно карбоксильной группы. Это исследование позволило получить интересные результаты и провести некоторую аналогию с биоцентрами природных металлоферментов.

Так, незначительное увеличение стерических затруднений в лигандном окружении сравнительно небольшого по размеру атома цинка (радиус двухзарядного иона цинка составляет 0.69 Å) путем введения в реакцию с хлоридом цинка бетайна **II**, содержащего метильный радикал в β -положении относительно карбоксилатной группы, приводит к образованию комплексов с соотношением металл:лиганд как 1:2, так и 1:1.

Однако, в отличие от незамещенного фосфабетайна **I**, его гомолог **II** проявляет склонность к комплексообразованию двумя различающимися способами. Реакцию, как и в предыдущем случае, проводили при соотношении реагентов 1:2 в водной среде при комнатной температуре и в качестве продукта получили белый порошок, который при перекристаллизации из смеси вода-этанол дает два вида прозрачных кристаллов, различающихся по форме **59** и **60**:



По данным PCA, представленным на рисунке 10, кристаллы **59** представляют собой биядерный комплекс с соотношением металл - лиганд 1:1, в котором два бидентатных фосфатаиновых лиганда образуют мостиковые связи с двумя атомами цинка. Необходимо отметить, что наличие хирального атома углерода в лиганде приводит к возможности образования двух диастереомеров димерного комплекса: (R,S/S,R) мезоформы и (R,R/S,S) диастереомера. Кристалл **59** представляет собой рацемический (R,R/S,S) диастереомер. Кристаллы второго типа, выпавшие из того же раствора, представляют собой моноядерный комплекс **60** состава металл-бетаин 1:2, сходный по строению с комплексом **58**. В кристалле **60** реализуется редкий случай совместной кристаллизации двух энантиочистых диастереомеров (R,S) и (S,S) в асимметрической части ячейки **60a** и **60b**, как показано на рисунке 10:

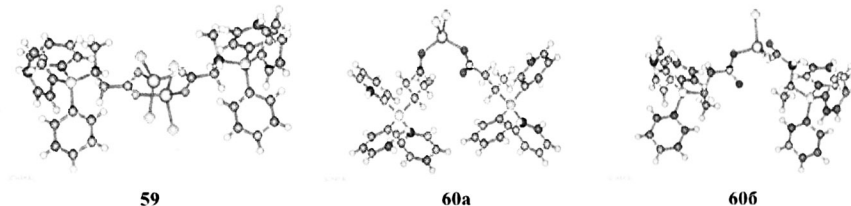
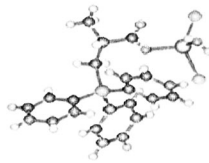
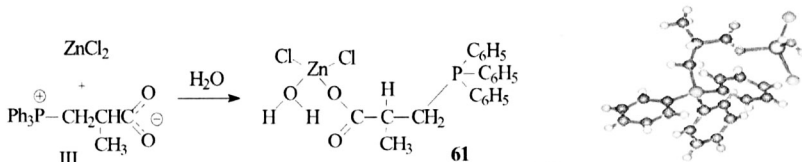


Рис 10. Геометрия металлокомплексов **59**, **60a** и **60b**

Значительные изменения в структуре комплекса цинка происходят при использовании в качестве фосфонийацилатного лиганда метакрилового производного **III**. Хотя и в этом случае реакция проводилась в водной среде при соотношении ZnCl_2 – бетаин 1:2, в реакцию комплексообразования вступает лишь одна молекула β -трифенилфосфоний- α -метилэтилкарбоксилата **III**, а второе вакантное координационное место занимает молекула воды. Очевидно, близко расположенный к координационному центру метильный радикал в α -положении относительно карбоксилатной группы обеспечивает существенное стерическое экранирование координационной сферы атома цинка, не давая возможности образовать донорно-акцепторную связь между атомом цинка и кислородом ацилатного аниона второй молекулы бетаина. В результате реакции были получены хорошо кристаллизующиеся прозрачные монокристаллы комплекса **61**:



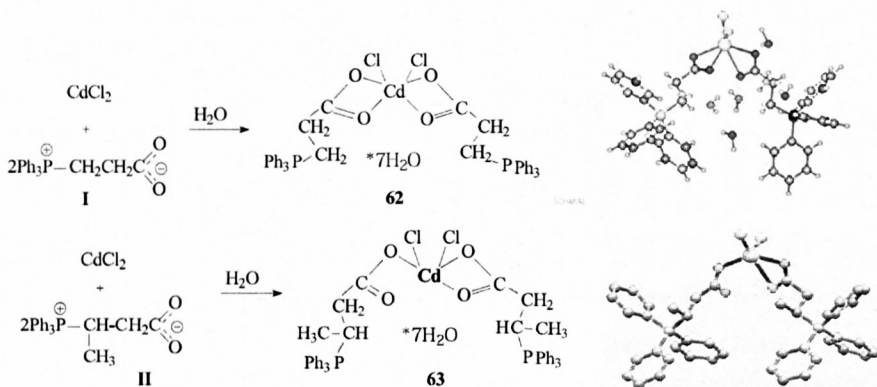
По данным РСА продукт **61** представляет собой комплекс цинка состава 1:1, при этом атом цинка имеет тетраэдрическую координацию, и связан, кроме лиганда, с двумя атомами хлора и одной молекулой воды. Конформация лиганда вдоль цепи $O=C-C(Me)H-CH_2-P$ цис, гош, при этом метильный заместитель находится в транс-ориентации относительно связи $C-P$.

Интересно, что активный центр в различных формах природного фермента – карбоангидразы, изученный методом РСА, также содержит тетраэдрический атом Zn^{2+} , координированный, в зависимости от pH, либо с молекулой воды, либо с гидроксид-ионом. Важно отметить, что любая модель металлофермента, в том числе и наша, имитирует лишь структуру активного центра фермента, но не обязательно его функцию или каталитическую активность, которые еще предстоит изучить.

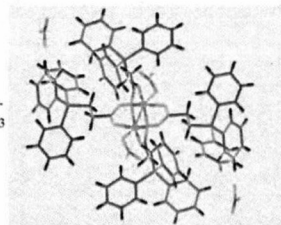
Таким образом, в результате проведенного исследования впервые получены металлокомплексы хлорида цинка с карбоксилатными фосфабетаинами **I** – **III**, причём в этих комплексах последние выступают в зависимости от конкретной ситуации в виде либо моно-, либо бидентатного лиганда, а их число регулируется стерическим эффектом метильных групп в фосфорорганическом лиганде.

4.2. Синтез и структура металлокомплексов на основе $Cd(2+)$, $Cu(2+)$, $Hg(2+)$ и фосфабетаинов (**I-III**)

В продолжение изучения процессов комплексообразования карбоксилатных фосфабетаинов с ионами различных биогенных металлов мы провели также систематическое исследование реакций карбоксилатных фосфабетаинов с хлоридами и нитратами *d*-металлов, что позволило нам разработать методы синтеза новых металлокомплексов как с моно-, так и с бидентатными карбоксилатными фосфабетаиновыми лигандами. Строение синтезированных нами соединений установлено методом РСА. Взаимодействие хлорида кадмия с фосфонийпропионатом **I** приводит к хелатному комплексу **62**, в котором каждый из ацилатных лигандов бидентатен. В то же время, β -метилированный аналог – бетаин **II**, очевидно, в силу стерических взаимодействий двух метильных групп не способен образовывать бис-хелатный узел: в этом случае один из лигандов монодентатен, а бис-ацилат **63** координационно ненасыщен:

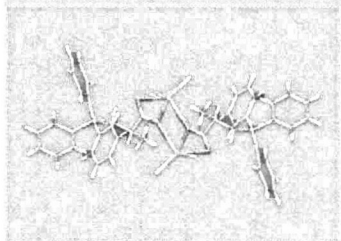
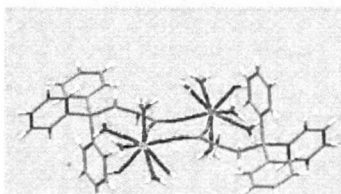


Нитрат меди образует с карбоксилатным фосфабетаином **I** в водно-спиртовой среде (1:1) при соотношении реагентов 1:2 биядерный комплекс типа «китайского фонарика»:



4.3. Синтез и структура биядерных и гетерометаллических полиядерных комплексов на основе карбоксилатных фосфабетаинов (I-III)

В настоящем разделе работы в результате взаимодействия бетанов **I** и **II** с хлоридами гадолиния (3^+) и ртути (2^+) получены соответствующие биядерные комплексы, структура которых установлена методом РСА и представлена ниже:



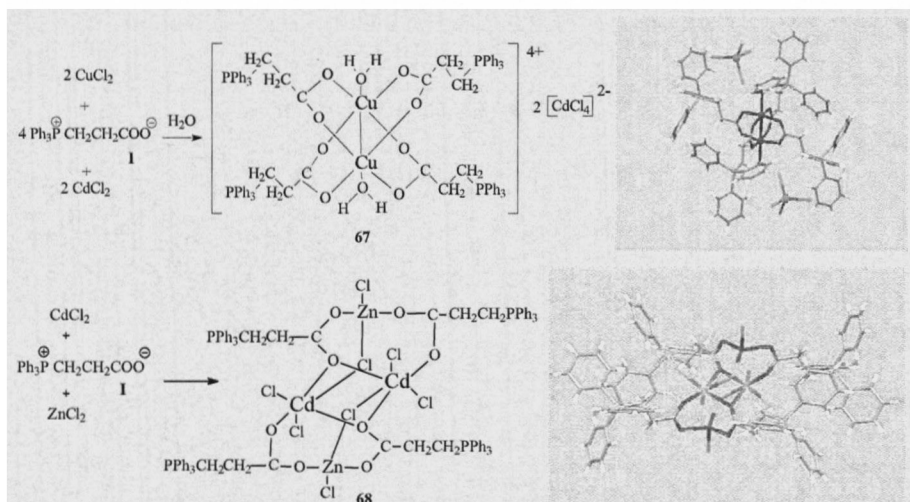
23

С целью получения гетерометаллических полиядерных комплексов мы изучили процессы комплексообразования не в двух-, а в трехкомпонентных системах, включающих помимо карбоксилатного фосфабетанина также и соли двух различных металлов.

И действительно, в трехкомпонентных системах фосфабетанин- CuCl_2 - CdCl_2 и фосфабетанин- ZnCl_2 - CdCl_2 с практически количественным выходом получены внешне- и внутрисферные полиядерные комплексы **67** и **68**, содержащие одновременно два разных металла.

Комплекс **67** имеет структуру «китайского фонарика». Координационное число ионов меди равно 6, одно из координационных мест занимает молекула воды, атомы меди связаны между собой. Четыре фосфабетаниновых лиганда эквивалентны и бидентатны. Два иона кадмия располагаются за пределами координационной сферы атомов меди и образуют внешнесферные анионы $[\text{CdCl}_4]^{2-}$.

В то же время, биметаллический комплекс **68** формируется с участием обоих атомов металлов – цинка и кадмия, связанных между собой мостиковыми атомами хлора. Координационное число ионов кадмия равно 6, ионов цинка – 4. Четыре фосфабетаниновых лиганда проявляют дентатность равную двум:



Таким образом, наши исследования показали возможность создания широкого разнообразия структур металлокомплексов путем варьирования как природы металла, так и строения фосфонийацилатных лигандов.

4.4. Синтез и структура металлокомплексных макроциклов на основе дикарбоксилатного дифосфабетанина с хлоридами цинка и ртути

Аналогичная описанному выше реакция комплексообразования между хлоридами цинка и ртути и дикарбоксилатным дифосфабетанином **IV**, полученным нами по аналогии с фосфабетанинами **I-III** реакцией акриловой кислоты с бис-(дифенилфосфино)этаном, дает мономерные 13-членные макроциклические комплексы **69** и **70**, при этом вероятное образование полимерных комплексов не наблюдается:

<p>61.</p>	<p>C 52.24 C 52.59 H 4.81 H 4.58 P 6.42 P 6.18 C₂₂H₂₃Cl₂O₃PZn</p>	26.3	97	90
<p>62.</p>	<p>C 51.03 C 51.57 H 5.44 H 5.32 P 6.33 P 6.22 C₄₂H₃₂Cl₂O₁₁P₂Cd(7H₂O)</p>	25.3	189.2 с разл.	92
<p>63.</p>	<p>C 52.07 C 52.54 H 5.83 H 5.57 P 6.41 P 6.17 C₄₄H₃₆Cl₂O₁₁P₂Cd(7H₂O)</p>	29.48	127	89
<p>64.</p>	<p>C 58.54 C 58.91 H 4.40 H 4.44 P 6.30 P 6.22 C₄₄H₇₆N₄O₂₄P₄Cu₂</p>	35.2	227.0 с разл.	81
<p>65.</p>	<p>C 35.47 C 35.71 H 3.26 H 2.96 P 4.49 P 4.39 C₄₇H₆₂Cl₆O₁₆P₂Gd₂</p>	33.3	74.1	95
<p>66.</p>	<p>C 42.31 C 42.62 H 3.23 H 3.39 P 5.09 P 5.00 C₄₄H₄₂Cl₄O₄P₂Hg₂</p>	30.15	137	87
<p>67.</p>	<p>C 51.03 C 51.20 H 4.12 H 4.08 P 6.33 P 6.17 C₄₄H₇₈Cl₆O₁₀P₄Cd₂Cu₂</p>	32.09	250.7	83.6
<p>68.</p>	<p>C 51.20 C 51.02 H 3.80 H 3.84 P 6.33 P 6.27 C₄₄H₇₆Cl₆O₄P₄Cd₂Zn₂</p>	27.1	270.1	95

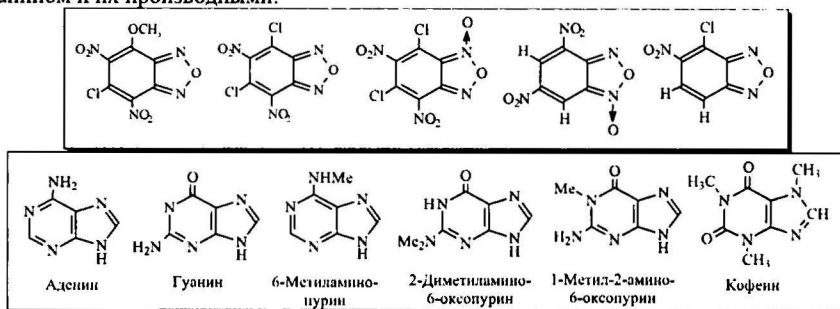
<p>69.</p>	<p>C 56.31 C 56.10 H 5.43 H 5.71 P 7.87 P 8.05 $C_{36}H_{44}Cl_2O_6P_2Zn$</p>	29.2	96.8	83
<p>70.</p>	<p>C 63.73 C 47.71 H 5.17 H 4.86 P 7.23 P 6.85 $C_{36}H_{44}Cl_2O_6P_2Hg$</p>	30.27	135.0	89

Таким образом, в результате описанного в этом разделе реферата исследования показано, что фосфабетаиновые структуры являются чрезвычайно перспективными лигандами, способными образовывать стабильные комплексы с самыми разнообразными металлами. При этом в зависимости от строения конкретного лиганда и природы металла могут образовываться моно- и полиядерные гомо- и гетерометаллические комплексы (в том числе, макроциклические), в которых карбоксилатные фосфабетаины могут быть как моно-, так и бидентатными лигандами, а также выступать в виде мостиковых групп между двумя металлоцентрами.

5. Фосфорилирование замещенных бензофураксанов и бензофуразанов третичными фосфинами

В продолжение описанных выше исследований реакций третичных фосфинов и карбоксилатных фосфабетаинов с электрофильными реагентами – высшими галоидными алкилами и солями металлов – представлялось интересным вовлечь третичные фосфины в реакции с электрофилами иной природы, а именно с хлорнитрозамещенными бензофураксанами и фуразанами, которые, как хорошо известно, сами обладают широким спектром биологической активности. Несмотря на то, что в литературе отсутствовали сведения о фосфорилировании бензофураксанов и -фуразанов фосфорными нуклеофилами, мы полагали, что в этих реакциях также удастся получить четвертичные фосфониевые соли, причем функционализированные биоактивным и реакционноспособным гетероциклическим фрагментом.

Поиск биологически активных соединений в рядах производных бензофуразанов и бензофураксанов не случаен, поскольку важной особенностью этих гетероциклов является их структурное сходство с азотистыми основаниями ДНК и РНК – аденином, гуанином и их производными:



Вполне возможно, что высокая биологическая активность синтезированных нами фосфорилированных бензофураксанов и -фуразанов **71-89** (см. ниже) может быть объяснена явлением интеркаляции, характерным для плоских ионизированных систем. Принятая в настоящее время интерпретация этого явления основана на том, что плоские молекулы, какими и являются производные бензофураксанов и -фуразанов по данным РСА, способны «вклиниваться» между парами оснований ДНК, образуя комплекс, который стабилизируется силами Ван-дер-Ваальса и ионными связями между заряженными группами как ДНК, так и использованных нами гетероциклов. Отсюда затрудняется (или ингибируется) возможность расплетания двойной спирали, нарушается синтез бактериальных ДНК и РНК с участием полимераз.

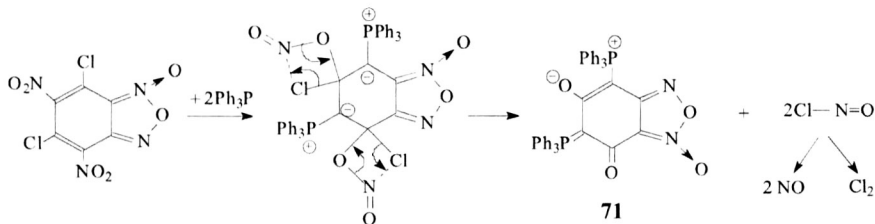
5.1. Реакции замещенных бензофураксанов с третичными фосфинами

На сегодняшний день в литературе отсутствуют сведения о реакциях нуклеофильного замещения в бензофураксановом и бензофуразановом циклах фосфорными нуклеофилами, хотя введение в его молекулу биогенных фосфорорганических заместителей, безусловно, является интересным как с теоретической точки зрения, так и в плане поиска потенциальной биоактивности.

Важно отметить, что еще в 1961 году американский ученый Маллори Ф.Б. впервые использовал трифенилфосфин в качестве восстановителя бензофураксанов до соответствующих -фуразанов при кипячении в ксилоле. Однако, в этой реакции кроме трифенилфосфиноксида никаких других фосфорсодержащих продуктов зафиксировано не было. Таким образом, в литературе до сих пор нет ни одного надежного примера введения фосфорорганического заместителя в бензофураксановые и бензофуразановые системы.

В настоящей работе мы изучили взаимодействие замещенных бензофураксанов с рядом третичных фосфинов. Реакции протекают при комнатной температуре в атмосфере аргона и приводят к образованию необычных продуктов как бис-, так и монофосфорилирования. Все эксперименты проводили в так называемом «физическом стекле» - в спиртово-эфирной среде (1:3) для удобства регистрации радикальных процессов методом ЭПР.

Реакция фосфорилирования дихлординитробензофураксана трифенилфосфином при комнатной температуре при соотношении реагентов 1:2 проходит необычным образом с участием как бензофураксановых хлор-, так и нитрогрупп в качестве реакционных центров, при этом образуется устойчивый дифосфорилированный продукт **71** и хлористый нитрозил, который в процессе реакции распадается на NO и молекулярный хлор:



С помощью метода ЭПР установлено образование в процессе реакции радикала NO, количество которого меняется во времени (рис. 12):

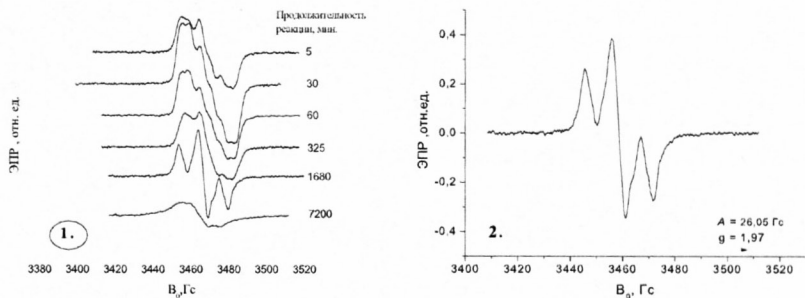


Рис. 12. ЭПР спектральные исследования реакционной смеси в течение 5 дней (1) и связанный NO радикал и его параметры (2)

Промежуточное образование NOCl доказано опытом с химической ловушкой. Строение конечного продукта **71** подтверждено также методами ЯМР и РСА:

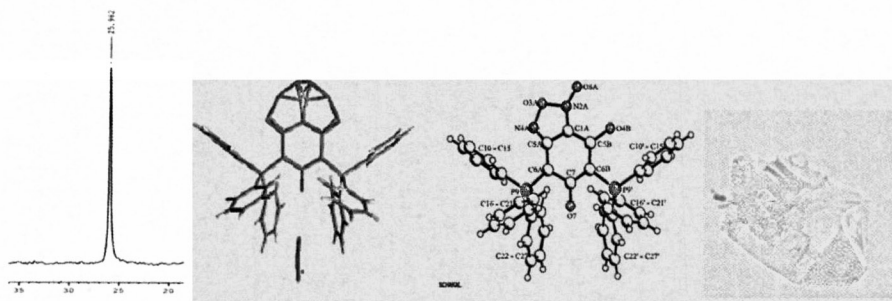
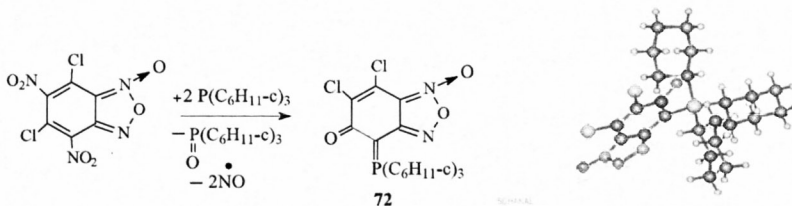
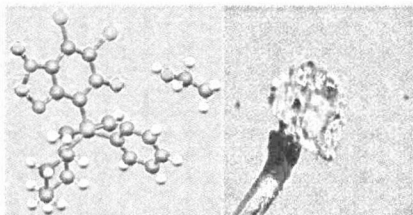
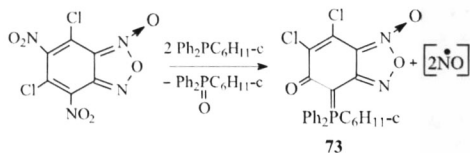


Рис. 13. Характеристические данные продукта **71**

Использование в реакции с бензофураксаном изоструктурного, но более нуклеофильного, по сравнению с трифенилфосфином, трициклогексилфосфина меняет течение процесса: в этом случае образуется продукт монозамещения – ирид **72**. Реакция сопровождается окислением третичного фосфина:

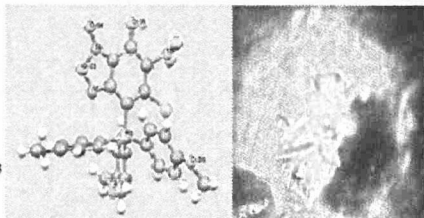
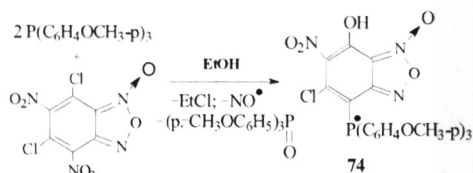


Аналогичным образом с образованием такого же продукта монозамещения **73** протекает и взаимодействие 5,7-дихлор-4,6-динитробензофураксана с дифенилциклогексилфосфином. В обоих случаях строение иридов фосфора **72** и **73** установлено с помощью рентгеноструктурного анализа:

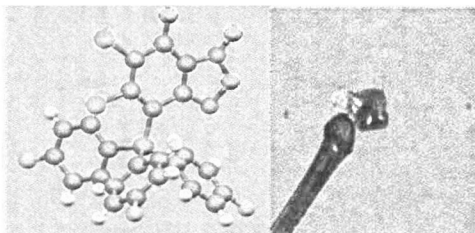
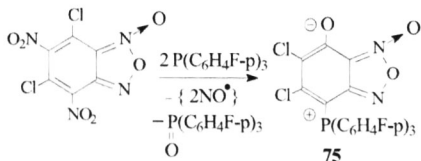


Таким образом, замена даже одного фенильного радикала на алкильный приводит к образованию продукта монозамещения.

Разнообразие синтетических вариантов применения реакции фосфорилирования 5,7-дихлор-4,6-динитробензофураксана с третичными фосфинами было нами продемонстрировано на примере его реакций с трис-(*n*-метоксифенил)- и трис-(*n*-фторфенил)-фосфинами, также приводящими к продуктам монозамещения. Однако, в первом случае в реакции, предположительно, принимает участие растворитель – этиловый спирт. При этом атом хлора замещается на гидроксигруппу с образованием в конечном итоге свободного радикала **74**, что отличает обсуждаемую реакцию от ранее описанных:

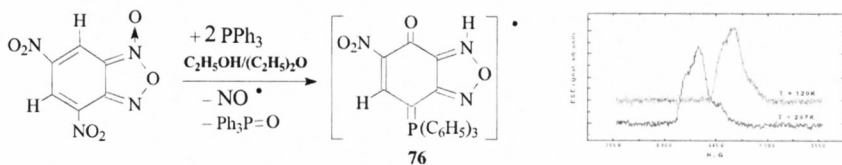


Фторзамещенный аналог снова обнаруживает специфику свойств в химическом поведении: продукт реакции с 5,7-дихлор-4,6-динитробензофураксаном по данным РСА имеет структуру фенолятного фосфабетанна **75**:

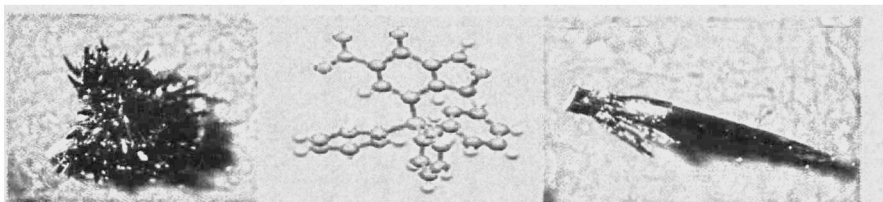


Однако при этом происходит значительная трансформация заместителей в бензольном фрагменте: элиминируют обе нитрогруппы с сохранением в то же время двух атомов хлора, хотя один из них при этом меняет свое положение в ароматическом кольце.

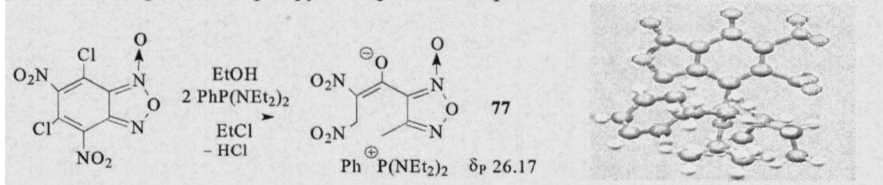
Особого внимания заслуживает реакция трифенилфосфина с 5,7-динитробензофураксаном, у которого отсутствуют два атома хлора в бензольном кольце гетероцикла. По данным ЭПР продукт монофосфорилирования – 6-нитро-7-оксо-4-(трифенилфосфоранилиден)-4,7-дигидро-2,1,3-бензодиазол-1-иумил – **76** представляет собой стабильный NH-радикал и открывает новый класс ранее неописанных соединений:



Через две недели из реакционной массы выкристаллизовываются друзы игольчатых кристаллов темно-красного цвета, которые по данным РСА имеют структуру сложного фосфоида **76**, представляющего собой стабильный свободный радикал:



Реакция 5,7-дихлор-4,6-динитробензофуроксана со значительно более сильным нуклеофилом – бис-(диэтиламино)фенилфосфином сопровождается элиминированием двух атомов хлора, обе нитро-группы при этом сохраняются:

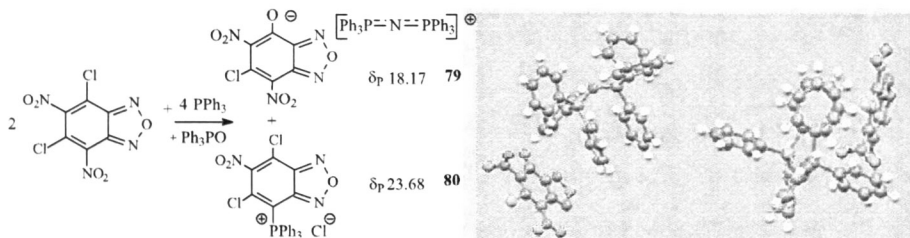


Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о том, что дихлординитробензофуроксан является крайне лабильной системой, легко подстраивающейся даже под незначительные изменения строения фосфорсодержащего нуклеофила. Этим и объясняется большое разнообразие полученных продуктов и своеобразие реакций с каждым из третичных фосфинов. Вместе с тем, все из исследованных нами реакций могут быть интерпретированы в рамках соответствующих схем, не противоречащих уже известным механизмам реакций нуклеофильного замещения в ароматических системах. Атака исходных и промежуточно образующихся в этих реакциях нуклеофильных частиц направляется либо на атом углерода, связанный с хлором (C-Cl), либо на атом углерода, связанный с нитрогруппой (C-NO₂) бензофуроксанового цикла с образованием в конечном итоге наиболее термодинамически стабильного продукта.

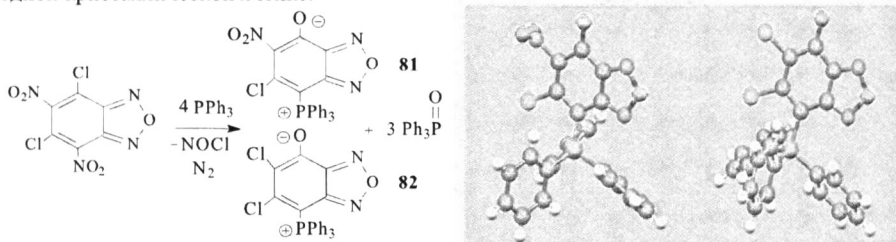
5.2. Реакции замещенных бензофуранов с третичными фосфинами

С целью расширения арсенала синтетических методов, приводящих к потенциально биоактивным фосфорилированным азотистым гетероциклам, мы изучили также реакции фосфорилирования третичными фосфинами ближайших аналогов бензофуроксанов – бензофуранов. Для удобства регистрации радикальных процессов методом ЭПР эти реакции также проводились при комнатной температуре в инертной атмосфере в спиртово-эфирной среде в соотношении 1:3. Реакция 5,7-дихлор-4,6-динитробензофурана с трифенилфосфином в соотношении 1:2 протекает легко с

образованием двух продуктов **79** и **80** (по данным ЯМР ^{31}P -спектров). Структура продукта **79** подтверждена методом РСА:

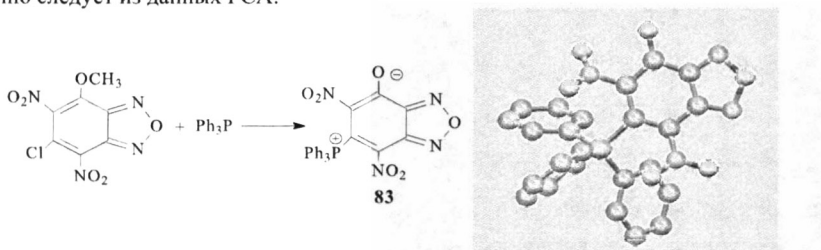


При четырехкратном избытке фосфина реакция приводит к образованию двух монофосфорилированных бензофуранов **81** и **82**, совместно кристаллизующихся в одной кристаллической ячейке:

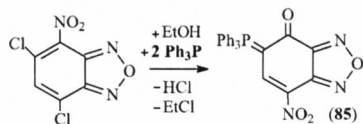
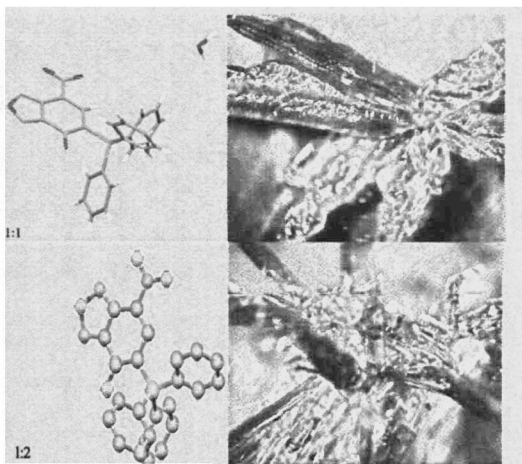
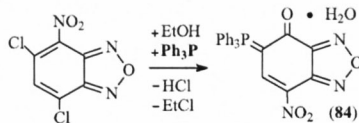


Таким образом, направление реакции зависит и от соотношения исходных реагентов.

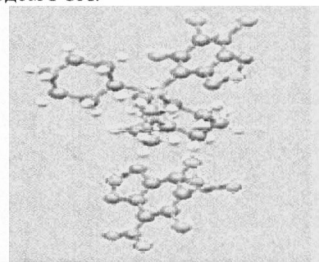
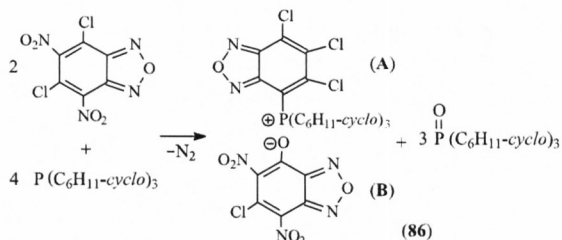
Замена одного из атомов хлора в гетероциклическом реагенте на метокси-группу снова меняет ход процесса фосфорилирования: реакция 4-метокси-6-хлор-5,7-динитробензофурана с трифенилфосфином сопровождается не только ароматическим нуклеофильным замещением хлора на атом фосфора, но и деметилированием метокси-заместителя, так что конечный фосфониевый продукт имеет структуру бетаина **83**, что однозначно следует из данных РСА:



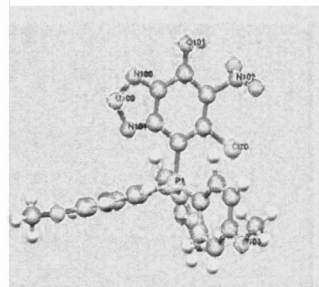
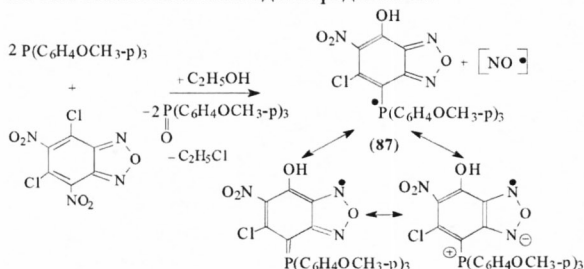
Переход к дихлормононитропроизводному опять сопровождается изменением синтетического результата: реакция 4-нитро-5,7-дихлорбензофурана с трифенилфосфином при соотношении реагентов 1:1 и 1:2 проводилась в предположении, что будет происходить замещение одного или двух атомов хлора. Однако полученные результаты свидетельствуют о том, что направление реакции не зависит от соотношения исходных веществ – в обоих случаях получены одинаковые илиды **84** и **85**, отличающиеся лишь тем, что при соотношении исходных 1:1 в кристаллической ячейке присутствует одна молекула воды (илид **84**). Структура продуктов фосфорилирования подтверждена методом РСА, а вид кристаллов представлен на фотографиях:



Трициклогексилфосфин реагирует с 5,7-дихлор-4,6-динитробензофуразаном (1:2) с образованием необычной фосфониевой соли **86**, в которой фосфониевому катиону **A** соответствует фуразановый анион **B**, что установлено методом PCA:

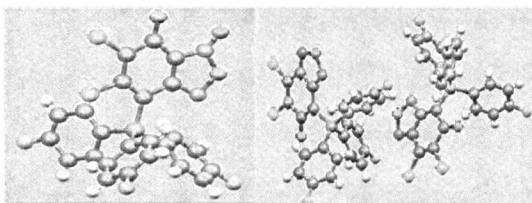
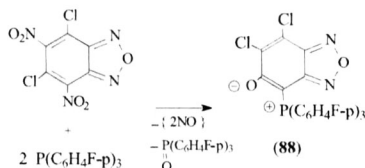


Реакция гетероциклического электрофильного реагента - 5,7-дихлор-4,6-динитробензофуразана с трис-(*para*-метоксифенил)фосфином (1:2) идет по гомолитическому пути, строение продукта, установленное методом PCA, характеризует его как стабильный свободный радикал **87**:



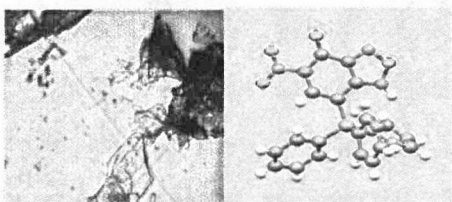
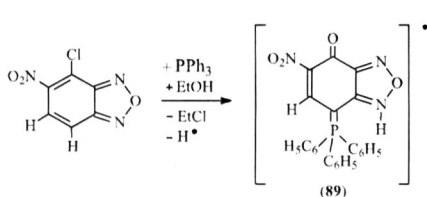
Следует отметить, что аналогичный свободный радикал **74** был получен нами и в результате реакции трис-(*n*-метоксифенил)фосфина с аналогичным фуроксаном (см. раздел 5.1.). Вероятно, способность стабилизировать свободные радикалы является отличительным свойством именно *para*-метоксифенильных заместителей у атома фосфора.

Трис-(*p*-фторфенил)-фосфин в реакции с 5,7-дихлор-4,6-динитробензофуразаном также дает продукт монозамещения, который по данным РСА имеет структуру фенолятного фосфабетанна **88**:



Примечательно, что и в этом случае структура дихлорзамещенного фенолятного фосфабетанна **88** весьма напоминает структуру продукта **75**, полученного в реакции фторированного фосфина с 5,7-дихлор-4,6-динитробензофураном (раздел 5.1.) за естественным исключением фуранового атома кислорода и лишь той разницей, что фосфониевый и фенолятный центры в продукте **88** находятся в *орто*-, а в продукте **75** в *пара*-положении. Наряду с результатами раздела 2 это свидетельствует о весьма важной, если не ключевой, роли тонких нюансов строения третичных фосфинов в формировании направлений фосфорилирования бензофуранов и бензофуразанов.

Одним из наиболее интересных продуктов в ряду замещенных бензофуразанов явился продукт фосфорилирования 4-хлор-5-нитробензофуразана трифенилфосфином – 5-нитро-4-оксо-7-(трифенилфосфораниден)-4,7-дигидро-2,1,3-бензоксазол-1-иумил,



который по данным ЭПР представляет собой стабильный NH-радикал **89** (рис.14):

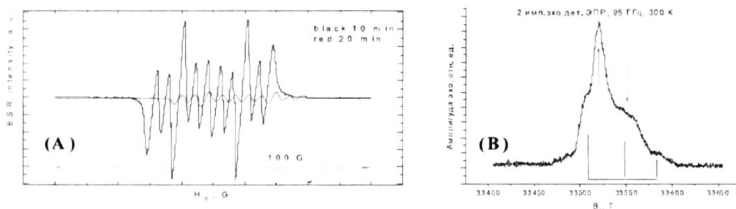


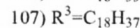
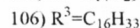
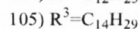
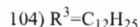
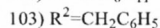
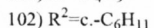
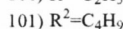
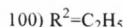
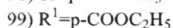
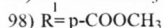
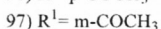
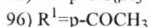
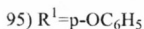
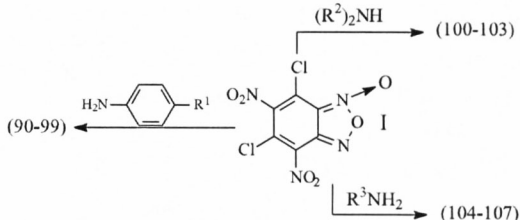
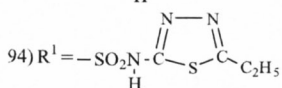
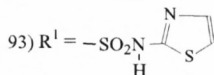
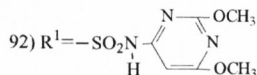
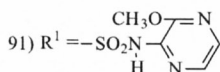
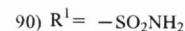
Рис.14. Спектр ЭПР реакционной смеси (А) и конечного продукта **89** (В) в реакции трифенилфосфина с 4-хлор-5-нитробензофуразаном

Таким образом, в результате фосфорилирования хлорнитрозамещенных бензофуразанов различными третичными фосфинами, как и в случае фосфорилирования аналогичных бензофуранов, направление реакции определяется как структурой третичного фосфина, так и конкретного гетероцикла, причем даже незначительные изменения в строении реагентов могут кардинальным образом сказываться на направлении реакций.

6. Функционализация замещенных бензофуруксанов и бензофуразанов различными аминами

Хорошо известно, что среди разнообразных азоторганических функциональных групп имеется большое число биологически активных и, в частности – фармакоформных, поэтому мы сочли необходимым изучить также реакции аминирования замещенных бензофуруксанов и бензофуразанов различными аминами и сульфаниламидами. Это нам представлялось также важным и в плане сравнения с описанными выше реакциями фосфорилирования тех же гетероциклических субстратов. В результате этих исследований нами было показано, что третичные амины не вступают во взаимодействие с указанными субстратами – видимо, в силу их существенно меньшей нуклеофильности по сравнению с третичными фосфинами. Это взаимодействие, как будет показано ниже, возможно лишь в присутствии воды за счет гидролиза по С-7 атому хлора с образованием 5-хлор-7-гидрокси-4,6-динитробензофуруксана – достаточно сильной кислоты, протонирующей третичные амины с образованием соответствующих солей.

В этой связи мы совместно с кафедрой ХТОСА КГТУ/КХТИ (зав. каф. проф. Фалыхов И.Ф.) изучили взаимодействие 5,7-дихлор-4,6-динитробензофуруксана и соответствующего 5,7-дихлор-4,6-динитробензофуразана с широкой серией первичных и вторичных аминов и сульфаниамидов, и показали, что в подавляющем большинстве случаев образуются продукты дизамещения обоих атомов хлора с образованием соответствующих 5,7-диамино-4,6-динитробензофуруксанов и – фуразанов:



В результате реакций аминирования были получены соответствующие продукты нуклеофильного дизамещения дихлординитробензофуруксана (90-107). Состав и строение продуктов подтверждены комплексом химических, физических и физико-химических методов: ТГ-ДСК, ИК-, ЯМР 1H и ^{31}P - спектроскопии, данными масс-спектрометрии, элементного анализа и PCA (рис.15):

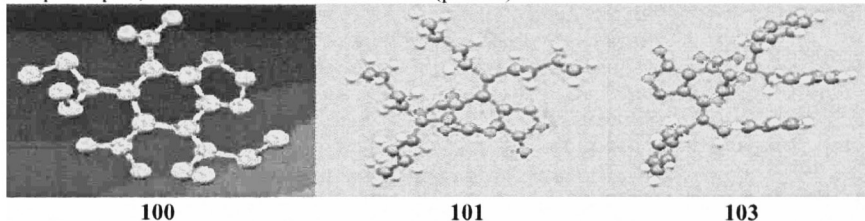


Рис. 15. Геометрия некоторых диаминированных фуруксанов (PCA)

Очевидно, что все описанные выше реакции нуклеофильного замещения (фосфорилирование и аминирование) в ароматическом кольце замещенных бензофураксанов и бензофуразанов протекают по механизму нуклеофильного ароматического замещения S_NAr , предполагающему образование в качестве интермедиатов соответствующих σ -аддуктов, называемых также комплексами или солями Мейзенгеймера. При этом следует отметить, что несмотря на общепризнанность образования σ -аддуктов (комплексов Мензенгеймера) в качестве интермедиатов во всех реакциях нуклеофильного ароматического замещения S_NAr , из-за их крайней неустойчивости в литературе имеются лишь единичные примеры их выделения и надежного доказательства структуры методом РСА. Для наших объектов исследования (фосфорилирование и аминирование замещенных бензофураксанов и бензофуразанов) таких примеров не имеется вовсе, хотя эта проблема чрезвычайно актуальна, о чем говорит большое число публикаций на эту тему – в основном, применительно к нуклеофильному ароматическому замещению в ряду динитрофураксанов. Авторы этих публикаций в результате многолетних кинетических и спектральных исследований констатируют, что наиболее удобным объектом для регистрации σ -аддуктов (комплексов Мензенгеймера) в ряду фураксанов и фуразанов является 4,6-динитробензофураксан. В этой связи нам представлялось очень интересным вовлечь в реакции аминирования именно 4,6-динитробензофураксан с целью получения на его основе стабильных комплексов Мензенгеймера.

И действительно, в реакции 4,6-динитробензофураксана с додециламином при соотношении (1:2) – нами были получены два комплекса Мейзенгеймера (**108** и **109**) с sp^3 -атомом углерода в 7 положении бензофураксанового цикла, которые отличаются заместителями в положении 5:

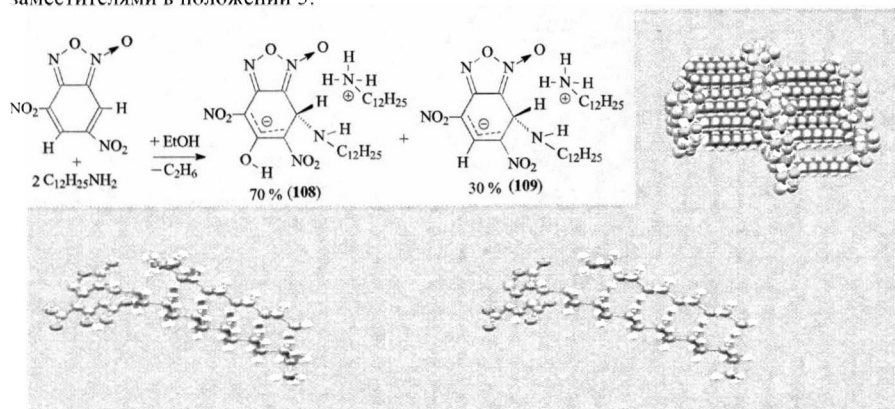
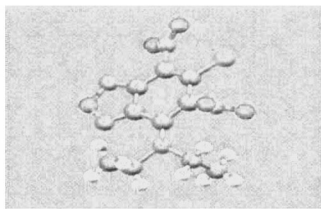
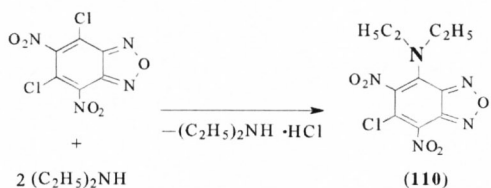


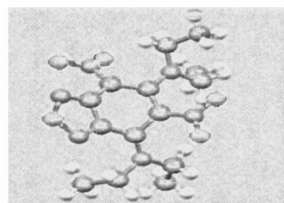
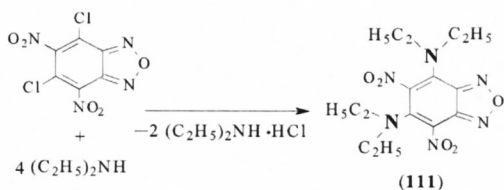
Рис. 16. Ван-дер-Ваальсова модель и геометрия (**108**), геометрия (**109**)

Полученные результаты не оставляют сомнения в том, что и все другие изученные нами реакции азотистых и фосфорных нуклеофилов с данными гетероциклами протекают через аналогичные интермедиаты – комплексы Мейзенгеймера.

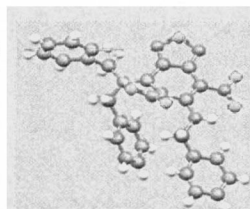
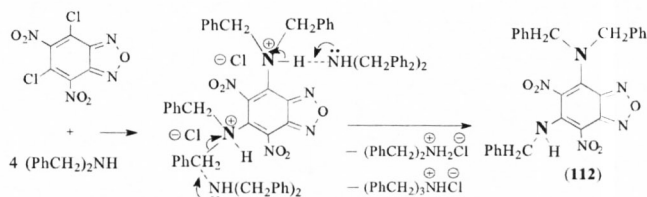
В отличие от изученного 5,7-дихлор-4,6-динитробензофураксана, который независимо от соотношения реагентов всегда образует продукты диаминирования, а 4,6-динитробензофураксан образует комплексы Мейзенгеймера, фуразаны вступают в реакции аминирования несколько иначе. Так, в результате реакции 5,7-дихлор-4,6-динитробензофуразана с диэтиламиноом при соотношении 1:2 выделен продукт моноаминирования **110**:



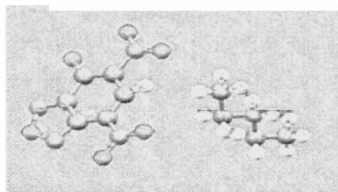
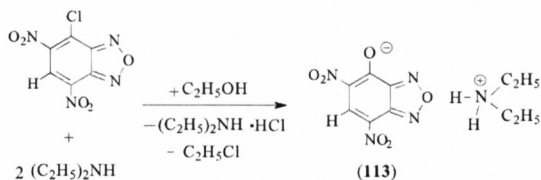
В то же время, при соотношении тех же исходных реагентов 1:4 выделен продукт диаминирования **111**:



Неординарно протекает и реакция 5,7-дихлор-4,6-динитробензофуразана с дибензиламином. Если в результате реакции аналогичного фуруксана обе дибензиламиногруппы входят в бензольное кольцо в неизменном виде **103**, то взаимодействие дихлординитробензофуразана сопровождается дезалкилированием (дебензилированием) промежуточной аммониевой соли, приводя к образованию продукта **112** по следующей наиболее вероятной схеме:



Неожиданный результат был получен в реакции аминирования 4-хлор-5,7-динитробензофуразана, который образует в реакции с диэтиламином при соотношении исходных соединений 1:2 лишь диэтиламмониевую соль 4-гидрокси-5,7-динитробензофуразана:

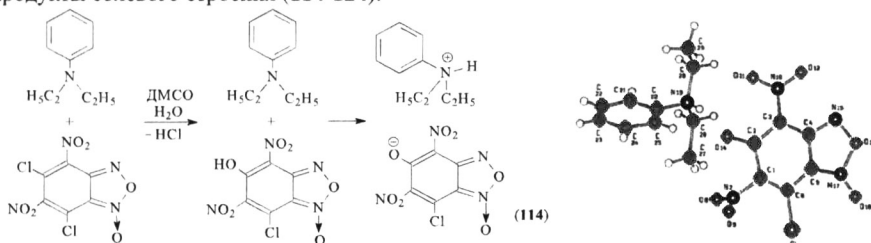


Очевидно, что в этом случае имеет место предварительный гидролиз 4-хлор-5,7-динитробензофуразана до соответствующего гидрокси-производного – скорее всего, влагой воздуха в силу, видимо, его особой гигроскопичности. В то же время, сам полученный результат – образование аммониевой соли с сохранением физиологически активного центра (азотистого гетероцикла) – является весьма примечательным, поскольку соли всегда более растворимы и соответственно более биодоступны.

Такой необычный результат стимулировал нас к повторному и более глубокому изучению взаимодействия хлорзамещенных азотистых гетероциклов с различными аминами уже в благоприятных для предварительного гидролиза условиях в плане возможного получения солей, либо комплексов с гидроксипроизводными указанных гетероциклов.

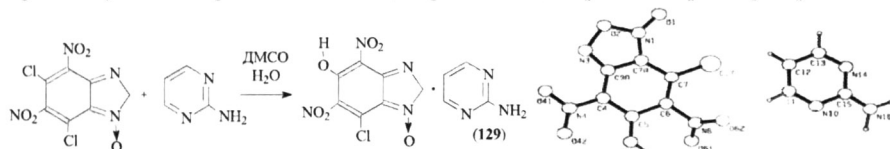
В этой связи для расширения круга биологически активных соединений на основе реакций 5,7-дихлор-4,6-динитробензофуросана с азотистыми нуклеофилами нами были предприняты попытки синтеза соответствующих солей и молекулярных комплексов в среде водного ДМСО, так как до этого в реакциях в среде этилового спирта и эфира, как показано выше, были выделены только продукты нуклеофильного замещения атомов хлора.

И действительно, в реакциях 5,7-дихлор-4,6-динитробензофуросана с замещенными анилинами, пиридинами и имидазолами (pK_a от 10 до 5) в среде водного ДМСО получены продукты солевого строения (114-124):



В частности, данные РСА свидетельствуют о том, что при взаимодействии 7-хлор-5-гидроксиз-4,6-динитробензофуросана, например, с N,N-диэтиланилином происходит перенос протона от гидроксильной группы гидроксифуросана к атому азота N,N-диэтиланилина с образованием соли 114. Состав и строение этого и остальных аналогичных продуктов (114-124), представленных в таблице 10, доказаны методами элементного анализа, ТГ-ДСК, ИК спектроскопии и РСА. В их ИК-спектрах регистрируются одиночные полосы поглощения в области, характерной для первичных аминов $3500-3300\text{ см}^{-1}$, и области 1680 см^{-1} ($C=N-O$), которая характерна для фуросанового цикла.

Кроме того, в реакциях 4,6-динитро-5-гидроксиз-7-хлорбензофуросана с рядом низкоосновных аминов – производных пиримидинов (pK_a пириимидина 1,3) нами были выделены и идентифицированы продукты реакции, имеющие структуру не солей, а молекулярных комплексов (125-129), в которых не происходит полного переноса протона от ОН-группы 4,6-динитро-5-гидроксиз-7-хлорбензофуросана на атом азота соответствующего амина, а образуется только мощная система водородных связей, причем с участием практически всех донорных и акцепторных центров партнеров:



Строение полученных продуктов доказывали с помощью методов элементного анализа, ИК-, УФ-спектроскопии, ТГ-ДСК, РСА (для 129 рис.17. и 18). В ИК-спектрах полученных соединений наблюдаются интенсивные полосы поглощения в области 3370

см⁻¹, характерной для связи NH₂, а также полосы валентных колебаний группы C=N-O в области 1612 см⁻¹.

УФ-спектры снимались в различных растворителях, а именно в ДМСО, в этаноле, в хлороформе и бензоле с целью изучения влияния природы растворителя.

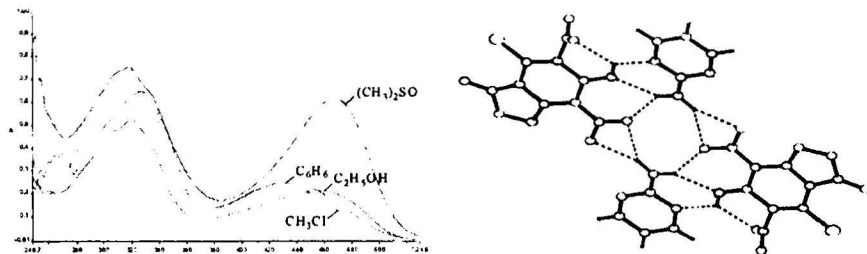


Рис.17. УФ-спектр стабильного полимолекулярного комплекса **129** и система водородных связей (РСА, водородные связи в тетрамере обозначены пунктиром)

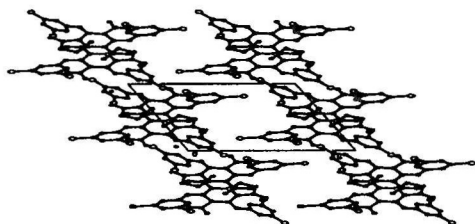


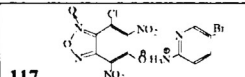
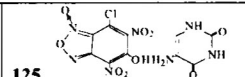
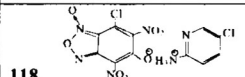
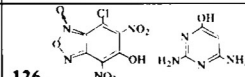
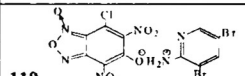
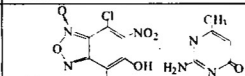
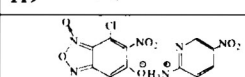
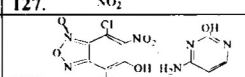
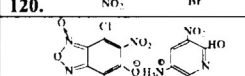
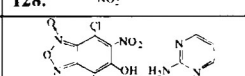
Рис.18. Упаковка молекул в кристалле **129**

6.1. Биологическая активность аминопроизводных бензофуроксанов

Описанные нами в настоящем разделе соединения прошли испытания на биологическую активность (табл. 5). Среди них наибольшая антимикотическая активность выявлена для солей фуроксана с производными пиридина, содержащими атом галогена, а также солей фуроксана с имидазолом. Эти соединения целесообразно рекомендовать для дальнейшего изучения в качестве лекарственных средств.

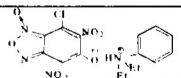
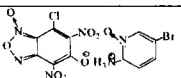
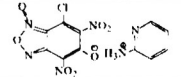
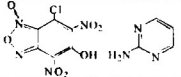
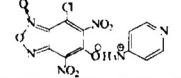
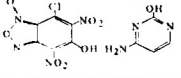
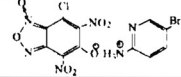
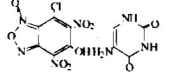
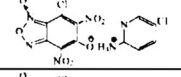
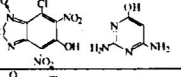
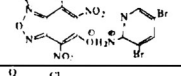
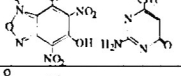
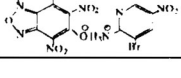
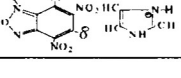
Таблица 5. Антимикотическая активность аминопроизводных бензофуроксанов

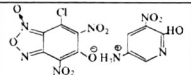
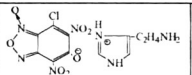
Соединение	Концентрация, МБК, %		Соединение	Концентрация, МБК, %	
	<i>Asp. niger</i>	<i>Candida albicans</i>		<i>Asp. niger</i>	<i>Candida albicans</i>
114.	0,05	0,0001	122.	0,1	-
115.	0,025	0,1	123.	0,1	-
116.	0,1	-	124.	0,025	0,0001

117.		0,0125	0,001	125.		0,1	-
118.		0,025	-	126.		0,1	-
119.		0,025	-	127.		0,1	-
120.		0,05	-	128.		0,05	0,0001
121.		0,1	-	129.		0,05	0,01

Синтезированные соединения (114-129) наряду с антимикотической активностью проявляют высокую антимикробную активность (табл. 6) Для изучения антимикробной активности солей и молекулярных комплексов фуросана с гетероциклическими аминами применялись общепринятые методы – метод серийных разведений в жидкой питательной среде или питательном агаре.

Таблица 6. Бактериостатическая активность аминопроизводных бензофуросанов

Соединение	Концентрация, МБК, %				Соединение	Концентрация, МБК, %			
	E. coli	Staph. aur.	Ps. aer.	Pro teus		E. coli	Staph. aur.	Ps. aer.	Proteus
	0.1	0.01	10 ⁻⁴	-		0.1	0.1	-	-
	0.05	0.05	10 ⁻²	-		0.1	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	0.1
	0.1	0.1	-	-		0.1	0.1	0.001	1
	0.05	0.001	0.1	0.1		0.1	0.1	-	-
	0.05	0.05	-	-		0.1	0.1	-	-
	0.05	0.05	-	-		0.1	0.05	-	-
	0.1	0.1	-	-		0.1	0.1	1	10 ⁻⁵

	0.1	0.05	-	-		0.1	0.05	-	-
---	-----	------	---	---	--	-----	------	---	---

Таким образом, проведенные исследования реакций 4,6-дихлор-5,7-динитро-бензофуроксана с гетероциклическими аминами открывают широкие возможности для синтеза новых потенциально биологически активных веществ.

7. Разработка антибактериальных, антимикотических, антипротозойных и антигельминтных композиций на основе синтезированных соединений

На основе синтезированных в настоящей работе соединений и результатов их биологических испытаний нами совместно с КГМУ, КГАВМ, КГТУ (КХТИ) и ОАО «Татхимфармпрепараты» разработаны, изготовлены, и прошли успешные лабораторные и полевые испытания новые эффективные лекарственные препараты для ветеринарии, что защищено 6 зарегистрированными заявками на патенты РФ.

7.1. Глазные капли и мази «Астра»

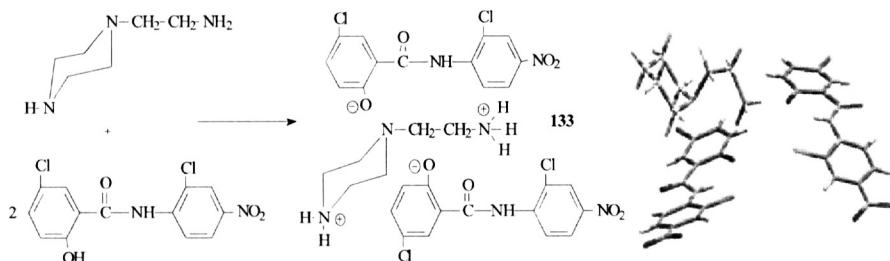
Совместно с зав. кафедрой фармации ФПКППС КГМУ профессором Егоровой С.Н. на ОАО «Татхимфармпрепараты» изготовлены глазные капли и мази, содержащие соль фосфония — гексадецилтрифенилфосфонийбромид **18** («Астра»), для лечения конъюнктивно-кератита у крупного рогатого скота, которые были испытаны кафедрой общей и частной хирургии КГАВМ под руководством проф. Шакурова М.Ш. на животных 1-2 летнего возраста, принадлежащих ООО «Асанбаш» Кукморского района Республики Татарстан.

Результаты исследований: 1. Глазные капли 0,01% (раствор) и глазная мазь 0,01% препарата «Астра», содержащие в качестве основного действующего вещества гексадецилтрифенилфосфонийбромид **18** на фармакопейной ланолино-вазелиновой основе удовлетворительно переносятся животными при введении в конъюнктивальный мешок. 2. Последовательное применение глазных капель 0,01% и глазной мази 0,01% препарата «Астра» обеспечивает лучший контакт препарата и ткани глаза. 3. Лечение катарального конъюнктивно-кератита с применением 0,01% глазных капель и мази препарата «Астра» обуславливает исчезновение воспалительной реакции в конъюнктиве и роговице и клиническое выздоровление животных на 26,4±1,43 день, а в сочетании с новокаиновой блокадой на 17,8±1,85 день. Это намного превосходит результаты применения известной 1% тетрациклиновой глазной мази (излечение за 3-4 месяца с эффективностью 50%), как по концентрации лекарственной субстанции, так и по продолжительности и качеству лечения.

7.2. Противонематодозная композиция «Дегельм»

Синтезирован и прошел опытные испытания на животных вивария кафедры паразитологии и радиобиологии КГАВМ и на пастбищах в ООО «Колос» Тетюшского района Татарстана эффективный нетоксичный (ЛД₅₀ 3500 мг/кг) антигельминтный лекарственный препарат «Дегельм» с низкими лечебными дозами (0,047 – 0,044 г/кг), расширяющий арсенал известных средств нематодозного назначения.

Фармацевтическая композиция «Дегельм» содержит гексадецилтрифенилфосфонийбромид **18** – 1 часть и 5,7-бис-(*m*-нитроанилино)-4,6-нитробензофуроксан **130** – 10 частей в качестве активных компонентов и глюкозу как вспомогательное вещество:

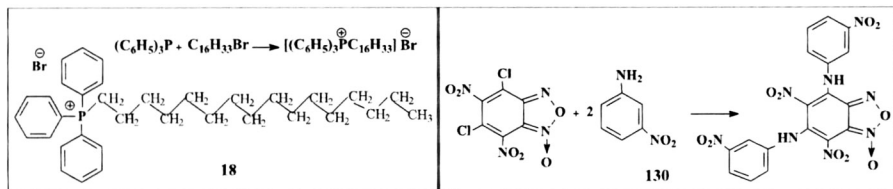


Выводы

1. Разработан и реализован комплексный стратегический подход к направленному синтезу физиологически активных веществ (ФАВ), основными элементами которого являются: функционализация заведомо биоактивных соединений дополнительными фармакоформными группами; направленный синтез структурных и функциональных аналогов фрагментов природных биомембран и металлоферментов на принципах биомиметики; изучение различных видов биологической активности синтезированных соединений с целью установления зависимостей «химическая структура – биологическое действие»; изучение механизма биологического действия синтезированных соединений комплексом современных физических и физико-химических методов с целью дальнейшего моделирования химической структуры конкретных ФАВ. На основе этого подхода синтезировано более 130 новых ФАВ как широкого, так и селективного действия, многие из которых по своему фармакологическому эффекту значительно превосходят известные препараты.
2. Разработан эффективный метод синтеза четвертичных фосфониевых солей с высшими алкильными радикалами – аналогов компонентов биологических мембран. Отличительной чертой этого метода является проведение реакции алкилирования третичных фосфинов высшими галоидными алкилами при существенном избытке последних в отсутствие других растворителей, что позволяет получать целевые продукты с практически количественным выходом. Получена широкая серия высших четвертичных солей фосфония, а также впервые полученные комплексы этих солей с дихлординитробензофураксаном и -фуразаном. Большинство полученных соединений обладает высокой биологической активностью в отношении патогенной микрофлоры человека и животных.
3. Впервые проведено алкилирование карбоксилатных фосфатаинов высшими галоидными алкилами. Получена широкая серия биологически активных сложных эфиров карбоксилатных фосфатаинов – четвертичных фосфониевых солей с высшими алкильными заместителями. Строение всех ключевых продуктов подтверждено методом рентгеноструктурного анализа.
4. В реакциях карбоксилатных фосфатаинов (фосфорных аналогов бетаинов аминокислот) с солями различных металлов – Zn (II), Cu (II), Hg (II), Cd (II) и Gd (III) впервые синтезирована серия биоактивных металлокомплексов - моделей биоцентов природных ферментов. Показано, что фосфатаиновые структуры являются чрезвычайно перспективными лигандами, способными образовывать стабильные комплексы с самыми разнообразными металлами. При этом в зависимости от строения конкретного лиганда и природы металла могут образовываться моно- и полиядерные гомо- и гетерометаллические комплексы (в том числе, макроциклические), в которых карбоксилатные фосфатаины могут быть как моно-, так и бидентатными лигандами,

а также выступать в виде мостиковых групп между двумя металлоцентрами. Строение всех полученных металлокомплексов подтверждено методом рентгеноструктурного анализа.

5. Впервые проведено систематическое исследование взаимодействия замещенных бензофураксанов и –фуразанов с серией третичных фосфинов. В этих реакциях получена широкая гамма разнообразных продуктов как моно-, так и дифосфорилирования – часто необычного строения: четвертичные фосфониевые соли, фосфониллиды, дифосфонидиллиды, стабильные свободные радикалы. Показано, что направление реакций наиболее существенным образом зависит от природы конкретного третичного фосфина. Строение всех ключевых продуктов фосфорилирования подтверждено методом рентгеноструктурного анализа. Большинство полученных соединений обладает высокой биологической активностью в отношении патогенной микрофлоры человека и животных.
6. Сравнительное исследование взаимодействия 5,7-дихлор-4,6-динитробензофураксана и –фураксана с ближайшими аналогами фосфинов – аминами показало, что третичные амины в отличие от третичных фосфинов вообще не вступают в подобные реакции вследствие их существенно меньшей нуклеофильности. С первичными и вторичными аминами, способными замещать атомы хлора с элиминированием хлороводорода, реакции аминирования протекают легко. При этом в случае дихлординитробензофураксана независимо от соотношения реагентов образуются только продукты диаминирования с замещением обоих атомов хлора в ароматическом кольце бензофураксана, тогда как в случае дихлординитробензофураксана при соотношении реагентов 1:2 возможно образование и продуктов монозамещения. Строение ключевых продуктов аминирования подтверждено методом рентгеноструктурного анализа. Проведена модификация уже известных лекарственных препаратов (сульфаниламидов и антипаразитарной лекарственной субстанции «фенасал») фармакофорными группами (дихлординитробензофураксаном и высшими алифатическими аминами) с целью усиления и расширения их биодействия. При этом получена серия новых физиологически активных веществ, строение которых установлено комплексом современных методов, включая рентгеноструктурный анализ.
7. В реакции 4,6-динитробензофураксана с додециламином впервые для реакций нуклеофильного ароматического замещения с участием аминов выделены и охарактеризованы комплексы Мейзенгеймера с sp^3 -атомом углерода в бензофураксановом цикле, строение которых подтверждено методом рентгеноструктурного анализа.
8. Все синтезированные соединения прошли испытания на биологическую активность по отношению к патогенной микрофлоре человека и животных. Установлено, что подавляющее большинство из них обладает от выраженной до крайне высокой антибактериальной, антимикотической, антипротозойной и антигельминтной активностью. По результатам исследования разработаны и успешно прошли лабораторные и расширенные полевые испытания конкретные фармацевтические композиции с низкой токсичностью: глазные капли и мази «Астра», антигельминтный препарат «Дегельм», антиэймериозный и антипилоплазмидозный препарат «Депрот» для лечения протозойных заболеваний, а также водорастворимая форма противопаразитарного препарата «Фенасал». На основе полученных данных по биологической активности синтезированных соединений и их композиций в 2010 году получены 6 положительных решений по заявкам на патенты РФ.



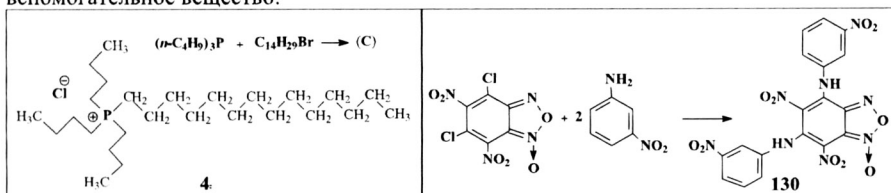
Соль фосфония **18**, снабженная «мембранным якорем», является действующим началом композиции – разрушает кутикулу нематод, что приводит к гибели паразита (ишемия кутикулы нематод по данным микроскопии). Замещенный бензофуорксан **130** – генератор 6 молекул NO – является релаксантом мышечной ткани паразита и способствует уничтожению паразита и дезинфекции места его обитания. Глюкоза в составе лекарственной формы является «приманкой» паразита и наполнителем в грануляте.

Установлено антигельминтное действие лекарственной формы «Депрот», и его действие изучено на поросятах (спонтанно инвазированных) при лечении нематодозов, вызываемых: аскаридой *Ascaris suum*, эзофагостомой *Oesophastomum dentatum* и власоглавом *Trichocephalus suis*.

7.3. Антипротозойная фармацевтическая композиция «Депрот» для лечения кокцидиозов и пироплазмидозов

Изучено антипротозойное действие лекарственной формы «Депрот» (гранулы) на кроликах, телятах и цыплятах (экспериментально зараженных) при лечении эймериозов вызываемых: эймерией *E. stiedae*, *E. perforans*, *E. media*, *E. magna* и *E. intestinalis* и пироплазмоза собак, вызываемых простейшими *Piroplasma canis* из семейства *Babesiidae* и *Theileriidae* в условиях вивария кафедры паразитологии КГАВМ.

Синтезированная фармацевтическая композиция «Депрот» содержит тетрадецилтрибутилфосфоний бромид **4** – 1 часть, и 5,7-бис-(*m*-нитроанилино)-4,6-нитробензофуорксан **130** – 10 частей в качестве активных компонентов и глюкозу как вспомогательное вещество:

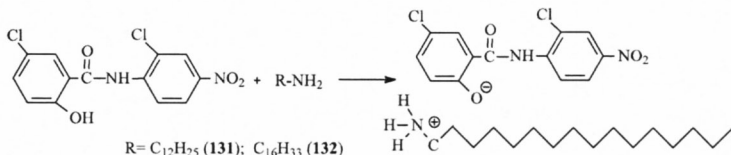


Определена острая токсичность «Депрот», которая составляет 11500 мг/кг. Результаты лечения показали, что препарат «Депрот» обладает сильным противопаразитарным действием на простейших, и восстановление жизненных показателей происходит быстрее, чем у животных и птиц при лечении сульфаниламидами (в случае эймериоза) и беренилом (при пироплазмидозе).

7.4. Новые противоцестодозные субстанции на основе «Фенасала»

В дополнение к изложенному выше одной из целей нашего исследования являлся синтез биодоступной водорастворимой формы фенасала со встроенным липофильным якорем для фиксации на биомембране паразита. Актуальность изучения проблемы лечения цестодозов, которые вызываются преимущественно гельминтами двух отрядов – лентецов и цепней, связано с тем, что они приводят к 10 – 13 видам заболеваний человека и животных. В то же время, выбор антигельминтиков, эффективных при цестодозах, существенно ограничен. Исходный противопаразитарный препарат «фенасал» (5,2-

дихлор-4-нитросалициланилид) был вовлечен в реакцию с додецил- и гексадециламином в соотношении 1:2. Как мы показали, в результате реакции образуются не ожидаемые продукты дизамещения атомов хлора, а водорастворимые аммониевые соли фенасала **131**, **132** с сохранением фармакофорных групп, ответственных за антипаразитарный эффект:



Фиксация потенциального лекарства в мембране клетки паразита может быть осуществлена путем присоединенного липидного якоря. Мембранным якорем в данном случае являются высшие алифатические амины. Такая двойная модификация фенасала (придание ему растворимости плюс мембранный якорь), по нашему предположению, должна способствовать изгнанию гельминтов не только из кишечника хозяина, но и из других мест их локализации.

Строение, индивидуальность и устойчивость полученных соединений доказана физическими, физико-химическими и химическими методами: ИК-, ЯМР-спектроскопией, ТГ-ДСК, элементным и рентгеноструктурным анализом:

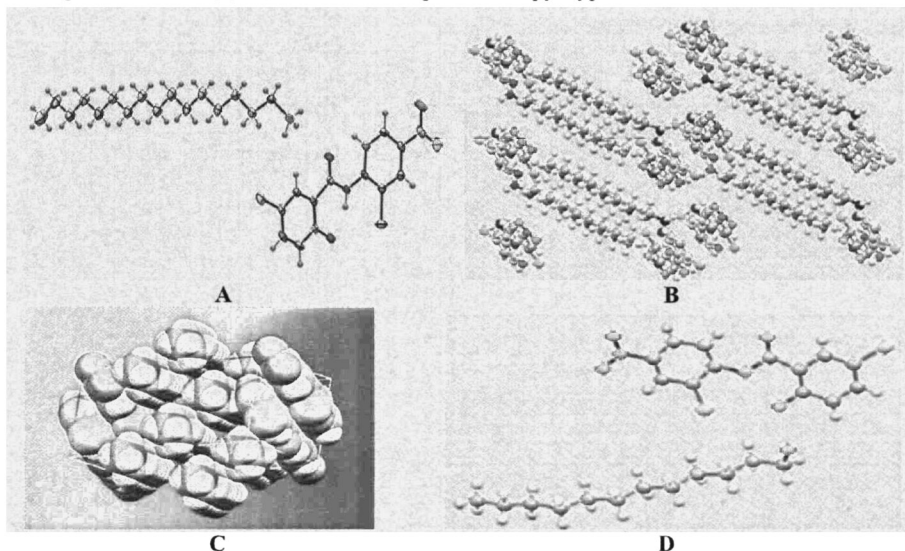


Рис. 19. Геометрия и фрагмент кристаллической упаковки «фенасала», модифицированного высшими аминами:

А – геометрия соли **132**; В – фрагмент кристаллической упаковки **132**;
С – Ван-дер-Ваальсова модель соли **132**; D – геометрия соли **131**.

Еще одна модификация фенасала была проведена 2-аминоэтилпиперазином, который и сам является хорошо известным противонематодозным препаратом.

В этом случае нам также удалось получить продукт солевой структуры **133**, в котором одна молекула аминопиперазина протонируется двумя молекулами фенасала.

**Основные публикации в изданиях, рекомендованных ВАК
для размещения материалов диссертации:**

Статьи:

1. Галкин, В.И. Синтез и свойства фосфабетаиновых структур. II. Синтез и молекулярная структура трифенилфосфонийэтилкарбоксилата и продуктов его алкилирования [Текст] / В.И. Галкин, Ю.В. Бахтиярова, Н.А. Полежаева, **И.В. Галкина**, Р.А. Черкасов, Д.Б. Криволапов, А.Т. Губайдуллин, И.А. Литвинов // Журн. общ. химии. – 2002. – Т.72, вып.3. – С. 404 – 411.
2. Галкин, В.И. Синтез и свойства фосфабетаиновых структур. III. Фосфабетаины на основе третичных фосфинов и α,β -непредельных карбоновых кислот. Синтез, строение и химические свойства [Текст] / В.И. Галкин, Ю.В. Бахтиярова, Н.А. Полежаева, **И.В. Галкина**, Р.А. Черкасов, Д.Б. Криволапов, А.Т. Губайдуллин, И.А. // Журн. общ. химии. – 2002. – Т.72, вып.3. – С. 412 – 418.
3. Galkin, V.I. Phosphobetaines on the basis of triphenylphosphine and unsaturated dicarboxylic acids [Text] / V.I. Galkin, Yu.V. Bakhtiyarova, **I.V. Galkina**, R.A. Cherkasov, A.N.Pudovik, D.B. Krivolapov, A.T. Gubaidullin, I.A. Litvinov // Phosphorus, Sulfur and Silicon and Relat. Elem. – 2002. – Vol. 177, № 8-9. – P. 2063.
4. Галкин, В.И. Синтез и свойства фосфабетаиновых структур. IV. Трифенилфосфонийэтилкарбоксилат в реакциях с дипольными электрофильными реагентами [Текст] / В.И. Галкин, Ю.В. Бахтиярова, Р.И. Сагдиева, **И.В. Галкина**, Р.А. Черкасов, Д.Б. Криволапов, А.Т. Губайдуллин, И.А. Литвинов // Журн. общ. химии. – 2006. – Т.76, вып.3. – С. 452 – 458.
5. Galkin, V.I. The synthesis and reactions of betaines formed in reactions of tertiary phosphines with unsaturated carboxylic acids and their derivatives [Text] / V.I. Galkin, Yu.V.Bakhtiyarova, R.I.Sagdieva, **I.V. Galkina**, R.A.Cherkasov // Heteroatom Chemistry.- 2006.- V.17, № 6.- P 557-566.
6. Канчурина, Э.Э. Реакции 5,7-дихлор-4,6-динитробензофураксана с гетероциклическими аминами пиридинового ряда [Текст] / Э.Э. Канчурина, **И.В. Галкина**, Л.М. Юсупова, В.Ф. Сопин, В.И. Галкин // Вестник Казан. технол. ун-та.- 2006.- №4.- С. 31-36.
7. Канчурина, Э.Э. Реакции нуклеофильного замещения 5,7-дихлор-4,6-динитробензофураксана с N,N-диэтиланилином [Текст] / Э.Э. Канчурина, **И.В. Галкина**, Л.М. Юсупова, В.Ф.Сопин, В.И.Галкин // Вестник Казан. технол. ун-та. - 2006.- №4.- С. 41-45.
8. Бахтиярова, Ю.В. Карбоксилатные фосфабетаины на основе третичных фосфинов и непредельных дикарбоновых кислот [Текст] / Ю.В. Бахтиярова, Р.И. Сагдиева, **И.В. Галкина**, В.И. Галкин, Р.А. Черкасов, Д.Б. Криволапов, А.Т. Губайдуллин, И.А. Литвинов // Журн. орг. химии.- 2007.- Т.43, вып.2.- С. 215-221.
9. **Галкина, И.В.** Необычная реакция фосфорилирования дихлординитробензофураксана трифенилфосфином [Текст] / И.В. Галкина, Е.В. Тудрий, Л.М. Юсупова, О.Н. Катаева, Г. Люфтвайн, В.И. Галкин // Уч. зап. Казан. ун-та, Сер. Естеств. науки.- 2008.- Т.150, кн.1.- С. 22-29.
10. **Галкина, И.В.** Реакция фосфорилирования 5,7-дихлор-4,6-динитробензофураксана трифенилфосфином – источник NO [Текст] / И.В. Галкина, Е.В. Тудрий, О.Н. Катаева, О.И. Гнездилов, А.В. Ильясов, Л.М. Юсупова, М.С. Тагиров, С.Б. Орлинский, Ю.К. Розенцвайг, В.И. Галкин // Вестник Казан. технол. ун-та.- 2008. - № 4.- С. 44-50.
11. **Галкина, И.В.** Реакции нуклеофильного замещения 5,7-дихлор-4,6-динитробензофураксана сульфаниламидами [Текст] / И.В. Галкина, Е.В. Тудрий, Р.З. Мусин,

- Л.М. Юсупова, В.Г. Сахибуллина, О.И. Гнездилов, А.В. Ильясов, В.И. Галкин // Уч. зап. Казан. ун-та, Сер. Естеств. науки. - 2008. - Т.150, кн. 3. - С. 65-75.
12. Бахтиярова, Ю.В. Трициклогексилфосфин в реакциях с моно- и дикарбоновыми кислотами [Текст] / Ю.В. Бахтиярова, М.С. Бондарь, **И.В. Галкина**, В.И. Галкин // Уч. зап. Казан. ун-та, Сер. Естеств. науки. - 2008. - Т.150, кн.1. - С. 42-55.
 13. **Galkina, I.V.** An Unusual Phosphorylation of Dichlorodinitrobenzofuroxane by Triphenylphosphine [Text] / I.V. Galkina, E.V. Tudriy, O.N. Kataeva, H. Luftmann, V.I. Galkin // Phosphorus, Sulfur and Silicon and Relat. elem. - 2009. - V 184, N 4. - P. 987-989.
 14. **Галкина, И.В.** Исследование методом ЭПР генерации NO в реакции фосфорилирования дихлординитробензофуроксана трифенилфосфином [Текст] / И.В. Галкина, Е.В. Тудрий, С.Б. Орлинский, М.С. Тагиров, В.И. Галкин // Уч. зап. Казан. ун-та, Сер. Естеств. науки. - 2009. - Т.151, кн. 1. - С. 23-32.
 15. Седых, А.Е. Программа «ХСНЕМ» - использование фрагментов химической структуры для поиска и моделирования химических и биологических свойств [Текст] / А.Е. Седых, **И.В. Галкина**, В.И. Галкин // Уч. зап. Казан. ун-та, Сер. Естеств. науки. - 2009. - Т.151, кн. 1. - С. 80-92.
 16. Bachtiyarova, Yu.V. New phosphorus ylides in reactions of phosphines with phosphorylated quinone methide [Text] / Yu.V. Bachtiyarova, M.S. Bondar, **I.V. Galkina**, V.V. Andriyashin, O.N. Kataeva, V.I. Galkin // Mendeleev Communications. - 2009. - V.19, №1. - P. 37-38.
 17. **Галкина, И.В.** ЯМР-спектральное исследование реакции фосфорилирования дихлординитробензофуроксана трифенилфосфином [Текст] / И.В. Галкина, О.И. Гнездилов, Е.В. Тудрий, А.В. Ильясов, В.И. Галкин // Уч. зап. Казан. ун-та, Сер. Естеств. науки. - 2009. - Т.151, кн. 3 - С. 36-45.
 18. **Галкина, И.В.** Взаимодействие солей фосфония с липидными компонентами мембран [Текст] / И.В. Галкина, Н.Б. Мельникова, Е.В. Тудрий, В.И. Галкин, О.Е. Жильцова, О.В. Жукова, С.Н. Егорова // Фармация. 2009. - № 4. - С. 35-38.
 19. **Галкина, И.В.** Биологическая активность четвертичных солей фосфония и перспективы их медицинского применения [Текст] / И.В. Галкина, С.Н. Егорова // Медицинский альманах. Раздел «Фармация». 2009. - №3(8). - С. 142-145.
 20. **Галкина, И.В.** Синтез и апробация нового поколения антигельминтиков [Текст] / И.В. Галкина, М.Х. Лутфуллин, С.Н. Егорова, Р.Ф. Мавлиханов, Н.А. Лутфуллина, Н.В. Воробьева, Р.И. Хамидуллин, Л.М. Юсупова, Л.В. Спатлова, В.И. Галкин // Российский паразитологический журнал. - 2010. - № 2. - С. 99-105.
 21. **Галкина, И.В.** Взаимодействие алкилированных фосфатабинов с липидными компонентами биомембран [Текст] / И.В. Галкина, Н.Б. Мельникова, Ю.В. Бахтиярова, В.В. Стахеев, В.И. Галкин, О.Е. Жильцова, О.В. Жукова, С.Н. Егорова // Фармация. Раздел: Технология лекарственных средств. 2010. - № 2. - С. 135-138.
 22. **Галкина И.В.** Синтез и структура металлокомплексов на основе хлорида цинка и карбоксилатных фосфатабинов [Текст] / И.В. Галкина, В.В. Стахеев, Ю.В. Бахтиярова, О.Н. Катаева, В.Г. Сахибуллина, О.И. Гнездилов, Р.А.Черкасов, А.В. Ильясов, В.И. Галкин // Уч. зап. Казан. ун-та, Сер. Естеств. науки. - 2010. - Т.152, кн. 1 - С. 20-27.
 23. **Галкина И.В.** Синтез и структура металлокомплексов на основе β -трифенилфосфонийэтилкарбоксилата [Текст] / И.В. Галкина, В.В. Стахеев, Ю.В. Бахтиярова, О.Н. Катаева, В.Г. Сахибуллина, О.И. Гнездилов, Р.А.Черкасов, А.В. Ильясов, В.И. Галкин // Уч. зап. Казан. ун-та, Сер. Естеств. науки. - 2010. - Т.152, кн. 1 - С. 28-37.
 24. **Галкина, И.В.** Новый подход к созданию антигельминтных средств: изучение антигельминтной активности фармацевтической композиции соли фосфония и

нитрозамещенного бензофураксана [Текст] / И.В. Галкина, М.Х. Лутфуллин, С.Н. Егорова, Р.Ф. Мавлиханов, Н.А. Лутфуллина, Н.В. Воробьева, Е.В. Тудрий, Л.В. Спатлова, Л.М. Юсупова, В.И. Галкин // Уч. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки.- 2010.-Т.152, кн. 2.- С. 227-236.

Патенты:

25. Полож. реш. на патент РФ 2009112924/15(017596) от 5.05.2010. Антигельминтная композиция на основе соли четвертичного фосфония и замещенного динитробензофураксана. **И.В. Галкина**, С.Н. Егорова, Л.М. Юсупова, Р.Ф. Мавлиханов, Н.А. Лутфуллина, Н.В. Воробьева, Е.В. Тудрий, Л.В. Спатлова, Ю.Г. Штырлин, В.И. Галкин, М.Х. Лутфуллин.
26. Полож. реш. на патент РФ 2009115058/04(020617) от 5.05.2010. Антигельминтное средство. Л.М. Юсупова, Л.В. Спатлова, С.Ю. Гармонов, **И.В. Галкина**, Р.Ф. Бакеева, М.Х. Лутфуллин, А.М. Идрисов, П.Г. Никифоров, Н.А. Лутфуллина.
27. Полож. реш. на патент РФ 2009122281/15(030775) от 25.05.2010 г. Средство для лечения глазных заболеваний в ветеринарии на основе соли фосфония. **И.В. Галкина**, Е.В. Тудрий, Ю.В. Бахтиярова, Ф.Ш. Шакуров, Н.М. Шамилов, В.И. Галкин, Т.А. Ахметова, С.Н. Егорова.
28. Полож. реш. на патент РФ 2009115059/15(020618) от 26.05.2010. Состав для профилактики и лечения стронгилятоза желудочно-кишечного тракта жвачных животных. Л.М. Юсупова, Л.В. Спатлова, С.Ю. Гармонов, **И.В. Галкина**, Р.Ф. Бакеева, М.Х. Лутфуллин, А.М. Идрисов, П.Г. Никифоров, Н.А. Лутфуллина.
29. Полож. реш. на патент РФ 2009115095/04(020655) от 1.06.2010. Антигельминтное средство. Юсупова Л.М., Л.В. Спатлова, Н.Ф. Фаляхов, **И.В. Галкина**, М.Х. Лутфуллин, А.М. Идрисов, П.Г. Никифоров, Н.А. Лутфуллина.
30. Полож. реш. на патент РФ 2009141010/04(058309) от 5.11.2010. 2-(Карбокси-*n*-алкил)этилтрифенилфосфоний бромиды, обладающие бактерицидной и фунгицидной активностью. И.В. Галкина, Бахтиярова Ю.В., Стахеев В.В., Егорова С.Н., Галкин В.И.

Учебные пособия, включающие материалы диссертации:

31. **Галкина, И.В.** Основы химии биологически активных веществ / И.В. Галкина // Учебное пособие для вузов с грифом УМО. – Казань. – 2009. – Изд-во Казанского ун-та. – 154 с. (формат А4, 19 печ.л.). – ISBN 978-5-98180-761-9.
32. **Galkina, I.** Fundamentals of Chemistry of Biologically Active Substances / I. Galkina, A. Benke // Учебное пособие для вузов с грифом УМО (на англ. яз.). – Казань. – 2007. – Изд-во Казанского ун-та. – 123 с. (формат А 4, 14,5 печ. л.). – ISBN 5-98180-408-4.
33. **Галкина, И.В.** Элементоорганические бетаины (издание 2-е, переработанное и дополненное) / И.В. Галкина, Ю.В. Бахтиярова, В.И. Галкин // Учебное пособие. – Казань. – 2007. – Изд-во Казанского ун-та. – 49 с.



Подписано в печать 21.10.10.
Бумага офсетная. Печать ризографическая.
Формат 60х84 1/16. Гарнитура «Times New Roman».
Тираж 100 экз. Заказ 159/10.

Отпечатано с готового оригинала-макета
в Издательстве Казанского университета

420008, г. Казань, ул. Профессора Нухина, 1/37
Тел. (843) 233-73-59, 292-65-60

